

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Série État N° 4

1° CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES
ASSOCIATIONS LIPOPROTÉIDIQUES
EN COUCHES MOLÉCULAIRES
A LA SURFACE DE SOLUTIONS AQUEUSES

2° PROPOSITION DONNÉE PAR LA FACULTÉ

THÈSES

pour l'obtention
du Diplôme de Docteur en Pharmacie (Doctorat d'Etat)

présentées et soutenues le juillet 1942

PAR

EDMOND SAIAS

JURY { MM. HÉRISSEY..... *Président.*
PICON..... *Professeur,*
GUILLOT..... *Maître de Conférences.*

LAVAL
IMPRIMERIE BARNÉOUD

1942

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Série État N° 4

1°

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES ASSOCIATIONS LIPOPROTÉIDIQUES EN COUCHES MOLÉCULAIRES A LA SURFACE DE SOLUTIONS AQUEUSES

2° PROPOSITION DONNÉE PAR LA FACULTÉ

THÈSES

pour l'obtention
du Diplôme de Docteur en Pharmacie (Doctorat d'Etat)

présentées et soutenues le juillet 1942

PAR

EDMOND SAIAS

JURY { MM. HÉRISSEY..... *Président.*
 PICON..... *Professeur.*
 GUILLLOT..... *Maitre de Conférences.*

LAVAL
IMPRIMERIE BARNÉOUD

1942

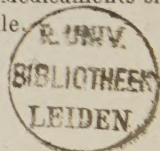
PERSONNEL DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE

Administration

MM. DAMIENS, Doyen, O. ✱, ☉ I.
H. HÉRISSEY, Assesseur, O. ✱, ☉ I.
H.-J. LIONNET, Secrétaire, ☉ I.

Professeurs

MM. DAMIENS, O. ✱, ☉ I.	Chimie minérale.
HÉRISSEY, O. ✱, ☉ I.	Chimie biologique.
SOMMELET, ✱, ☉ I.	Chimie organique.
FABRE, ✱, ☉ I.	Toxicologie.
LAUNOY, O. ✱, ☉ I.	Zoologie.
DELABY, ✱, ☉ I.	Pharmacie chimique.
PICON, ✱, ☉ I.	Physique.
MASCRÉ, ✱, ☉ I.	Histoire naturelle des Médicaments simples d'origine végétale.
BACH, ✱, ☉ I.	Botanique.
FLEURY, ☉ I.	Chimie analytique.
RÉGNIER, ☉ I.	Microbiologie.
JANOT, ☉ A.	Pharmacie galénique.



Doyens honoraires : MM. RADAIS, O. ✱, ☉ I. — GUÉRIN, O. ✱, ☉ I.

Professeurs honoraires : MM. DELÉPINE, O. ✱, ☉ I. et LEBEAU, O. ✱, ☉ I.
Membres de l'Institut.

PERROT, C. ✱, ☉ I., COUTIÈRE, O. ✱, ☉ I.
BOUGAULT, O. ✱, ☉ I., LUTZ, ✱, ☉ I. et
GORIS, O. ✱, ☉ I.

Maitres de conférences

MM. BEDEL, ✱, ☉ I.	Minéralogie, Législation et Déontologie pharmaceutiques.
CHARONNAT, ☉ I.	Hydrologie et Hygiène.
VALETTE, ☉ A.	Cryptogamie et technique microbiologique. Pharmacodynamie.
FONTAINE	Histoire naturelle.
GUILLOT.	Sciences physiques et chimiques.
N.	Sciences naturelles.

Chefs des travaux pratiques

MM. DOMANGE, ☉ A.	Trav. pratiques de 1 ^{re} année.	Chimie générale et pharmaceutique.
GAUTIER, ☉ A.	Trav. pratiqu. de 2 ^e et 3 ^e année.	Chimie analytique.
PARIS		Micrographie.
CORRIEZ, ☉ A.		Physique.
DAVID, ☉ I.		Microbiologie.
N.		Chimie biologique, Bromatologie et Pharmacie chimique.

Bibliothécaire en Chef : M. GARNIER, ☉ A.

Bibliothécaire : M^{lle} LAVAUD, ☉ A.

A MES PARENTS



Digitized by the Internet Archive
in 2026

A MONSIEUR LE PROFESSEUR H. HÉRISSEY

MEMBRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
PROFESSEUR DE CHIMIE BIOLOGIQUE A LA FACULTÉ DE PHARMACIE
PHARMACIEN HONORAIRE DES HÔPITAUX DE PARIS

Qui me fait l'honneur de présider cette thèse

En hommage de respectueuse reconnaissance

A MONSIEUR LE PROFESSEUR M. PICON
PROFESSEUR DE PHYSIQUE A LA FACULTÉ DE PHARMACIE
PHARMACIEN DES HÔPITAUX DE PARIS

Qui a bien voulu accepter de faire partie de mon jury

En hommage de gratitude et de respect

A MONSIEUR MARCEL GUILLOT
MAÎTRE DE CONFÉRENCES A LA FACULTÉ DE PHARMACIE
PHARMACIEN DES HÔPITAUX DE PARIS

En souvenir de cinq années
passées auprès de lui à l'Hôpital Broussais

*En témoignage de ma sincère reconnaissance
et de mon profond dévouement*

INTRODUCTION

LES CÉNAPSES LIPOPROTÉIDIQUES

L'attention des biologistes a été attirée depuis longtemps par le contraste existant entre l'hétérogénéité de composition du protoplasme vivant et son homogénéité apparente.

« Le cytoplasme apparaît toujours optiquement vide, il n'est donc pas à l'état d'hydrosol comme l'auraient prétendu certains botanistes, mais à l'état d'hydrogel fluide ou gliode. Il ne montre en général que les granulations lipidiques qui, par leur forte réfringence, sont les éléments les plus facilement visibles à l'éclairage direct et aussi à l'éclairage latéral, où ils apparaissent fortement lumineux, ce qui permet de les distinguer avec une grande netteté, et de les voir déplacés dans le cytoplasme entièrement noir... Les vacuoles liquides des cellules adultes elles-mêmes sont optiquement vides et ne se distinguent généralement pas » (GUILLIERMOND) [43].

Le plasma, le sérum sanguin, eux aussi apparaissent optiquement vides à l'ultramicroscope.

Les lipides des cellules vivantes qui forment partie intégrante du protoplasme animal ou végétal sont masqués à leurs réactifs histochimiques et ne peuvent être extraits des tissus par l'éther; la lipophanérose ne se produit en effet que lorsque les protéines protoplasmiques sont dénaturées par l'alcool ou le thymol, ou hydrolysées par une protidase.

Ces différents faits ont conduit les cytologistes à admettre l'existence de complexes lipoprotéidiques. Des recherches biochimiques sont venues étayer cette hypothèse.

Par une série de précipitations fractionnées par le sulfate d'ammonium à des pH déterminés, MACHEBŒUF [58, 59] a isolé du sérum de cheval une fraction lipoprotéidique renfermant 40 % de stérides et de phosphatides; protéides et lipides sont tous deux dissimulés à certains de leurs réactifs; ce complexe, très soluble dans l'eau, donne aux fortes concentrations des gélées limpides, optiquement vides, possédant une certaine élasticité, et qui correspondent à la définition du *gliode* de BOTTAZZI. MACHEBŒUF [60] propose la dénomination de « cénapse » pour désigner les produits de l'union de deux ou plusieurs constituants de la matière vivante.

La préparation des cénapses lipoprotéidiques a été simplifiée [63, 64] et leurs propriétés décrites par MACHEBŒUF en collaboration avec SANDOR [65, 66] et VANAUD [73]; par DELAGE [49, 21, 22, 23, 25]; par COPPO et MARFORI [48, 79].

TAYEAU [67, 68, 69, 70, 71, 109, 110] a fait l'étude d'un phénomène signalé déjà par CHARONNAT [12, 13]: le déplacement du cholestérol de son support protéique par les savons.

Le résultat de ces travaux a apporté une contribution importante à la physiopathologie des néphroses lipoïdiques et de certaines lipémies [61, 62, 72, 74, 75, 76, 77]. Les modifications pathologiques du système lipoprotéidique ont été suivies par DELAGE [20, 24, 26] et par COPPO et MAGRASSI [47].

Nous rappellerons l'importance des cénapses glucidoprotéidiques et glucidolipidiques dans les phénomènes immunitaires.

Le but de notre travail a été de réaliser des associations synthétiques lipoprotéidiques, analogues aux cénapses naturelles, à partir de composés aussi purs que possible.

Lors d'essais préliminaires en phase homogène, nous avons cherché à combiner, au cours de dénaturations réversibles, des protéines dissoutes à des lipoides également en solution. Les résultats ont été négatifs.

Nous avons alors été attiré par les travaux de RIDEAL [91], qui ont montré que des associations de ce genre, qui ne se produisent pas en phase homogène, deviennent réalisables entre *molécules orientées* en film, aux interfaces de deux phases. Utilisant la même méthode que cet auteur, nous avons obtenu les résultats qui vont être exposés dans ce travail : une première partie sera consacrée à l'exposé des notions actuellement admises sur les propriétés des couches monomoléculaires qui nous intéressent. Dans la deuxième, seront décrites les expériences qui nous permettent d'étendre à la sérumalbumine humaine les résultats de RIDEAL, relatifs seulement à une protéine végétale, la gliadine.

Ce travail a été effectué au Laboratoire de chimie pathologique de l'hôpital Broussais-La Charité. Le sujet nous a été inspiré par M. Marcel GUILLOT, Maître de Conférences à la Faculté de Pharmacie, Pharmacien des Hôpitaux de Paris, qui a bien voulu nous diriger dans nos recherches; c'est avec joie que nous pouvons ici lui exprimer notre vive gratitude et notre sincère attachement.

Nous remercions MM. Em. ANDRÉ et G. VALETTE, Pharmaciens des Hôpitaux de Paris, qui ont bien voulu nous procurer quelques échantillons de substances d'une grande pureté.

PREMIÈRE PARTIE

PROPRIÉTÉS GÉNÉRALES DES FILMS MOLÉCULAIRES SIMPLES OU COMPLEXES

CHAPITRE PREMIER

GÉNÉRALITÉS SUR LES COUCHES MONOMOLÉCULAIRES

Principaux types de couches monomoléculaires.

Nous pouvons, en première approximation, ranger les couches superficielles en deux groupes, selon leur mode de formation.

I., — Couches superficielles d'adsorption.

De nombreux corps en solution abaissent la tension superficielle du solvant.

D'après la loi de GIBBS-THOMSON, si le corps a tendance à s'adsorber à la surface, il en résulte une diminution d'énergie libre superficielle. L'énergie est minimum quand la concentration superficielle est maximum ; c'est l'inverse quand la tension superficielle est augmentée.

La valeur de l'excédent de concentration en molécules-grammes par centimètre carré est donnée par la relation :

$$\Gamma = - \frac{c}{RT} \frac{d\gamma}{dc}$$

c , concentration (ou, plus exactement, activité) du corps dissous en molécules-grammes par centimètre cube,

$\frac{d\gamma}{dc}$, dérivée de la tension superficielle par rapport à c ,

R , constante des gaz,

T , température absolue.

De cette équation, LANGMUIR déduit que les molécules adsorbées à l'interface eau-air se comportent comme les molécules d'un gaz parfait. Les films d'adsorption sont toujours gazeux. Dans cet état les molécules sont couchées sur la surface. Le film d'adsorption est en équilibre réversible avec la solu-

tion : à chaque instant, un certain nombre de molécules s'échappe du film pour repasser en solution, et simultanément, un nombre égal de molécules dissoutes vient au contact du film et y prend place, de sorte que statistiquement, le nombre de molécules du film reste invariable. Un tel film diffère totalement de ceux que nous décrivons ci-après, qui n'échangent en aucun cas leurs molécules avec celles que contient le milieu sous-jacent.

II. — Couches superficielles d'étalement.

Certains corps insolubles, telles les matières grasses, déposés à la surface de l'eau, sont susceptibles de s'étaler sur toute la surface qui leur est offerte ; leurs molécules s'écartant les unes des autres, elles exercent, dans le plan de la surface aqueuse, sur tout le pourtour de la couche d'étalement, une certaine pression appelée *pression superficielle*, indépendamment de la *tension superficielle* du liquide sous-jacent.

Considérons une surface aqueuse, de tension superficielle γ , limitée sur trois côtés par les bords d'une cuve rectangulaire, et sur le quatrième par une barrière flottante rectiligne, mobile sans frottement, de longueur l . Après souillure par une trace de matière grasse, on constate que la tension superficielle devient γ' et qu'une pression superficielle se manifeste sur le flotteur, égale à F dynes par centimètre. Sous cette pression le flotteur se déplace parallèlement à lui-même de d cm., le travail effectué est Fld . L'énergie libre de la partie de la surface considérée était initialement égale à γld ; à la fin, elle prit la valeur $\gamma' ld$, l'énergie libre de surface et la tension superficielle ayant la même valeur numérique. La variation d'énergie libre $(\gamma - \gamma')ld$ est égale au travail effectué Fld , d'où l'on déduit : $F = \gamma - \gamma'$.

La *pression superficielle* qui s'exerce sur le flotteur est donc égale à la *variation de tension superficielle* produite par la couche monomoléculaire.

L'expérience montre que si l'on réduit de moitié la surface de la couche d'étalement, la pression mesurée au pourtour est multipliée par deux, et que, d'une manière générale, le produit $F.A$ de la pression superficielle par la surface est constant. On peut donc comparer l'expansion des molécules dans le plan de la surface à l'expansion d'un gaz dans une enceinte à trois dimensions. La loi $F.A = \text{constante}$ correspond alors à la loi de MARIOTTE $PV = C^{\text{te}} = RT$ (MARCELIN) [78].

Aire moléculaire. — Connaissant la surface A (en angströms carrés) sur laquelle on a étalé une quantité p grammes de substance de poids moléculaire M , on peut calculer l'aire a occupée en moyenne par une molécule du corps étudié :

$$a = \frac{A.M}{6,06.10^{23}p}.$$

La seule hypothèse faite est que toutes les molécules sont étalées en couche monomoléculaire à des distances égales les unes des autres.

Des isothermes de compression sont établies en portant en abscisses les aires moléculaires a , et en ordonnées les pressions superficielles F .

Dans les mémoires, le symbole a_0 représente la valeur de l'aire moléculaire (ou parfois de l'aire en mètres carrés par milligramme de substance

étalée) que l'on obtient en extrapolant à la valeur $F = 0$ l'isotherme $F = f(A)$.

Conditions d'étalement d'une substance sur des surfaces aqueuses. — Si nous déposons une goutte d'huile à la surface d'une solution aqueuse, il se pourra ou bien que la goutte s'étale en une lame mince continue, ou bien que l'huile se rassemble en une ou plusieurs gouttelettes isolées les unes des autres.

Soit γ_{ow} la tension interfaciale corps gras-eau, γ_0 la tension superficielle du corps gras, γ_w celle de l'eau; l'équilibre ne peut avoir lieu que si :

$$\gamma_w = \gamma_0 + \gamma_{ow}.$$

Dans ce cas, la couche déjà formée resté stable.

Si, au contraire, $\gamma_w < \gamma_0 + \gamma_{ow}$ l'huile se condense en gouttelettes (l'énergie libre de surface décroît, quand la couche se contracte).

Mais lorsque $\gamma_w > \gamma_0 + \gamma_{ow}$, la couche tend à s'étaler au maximum (la diminution d'énergie libre se produit lorsque le corps gras s'étend sur la surface).

HARKINS désigne l'expression $F_s = \gamma_w - (\gamma_0 + \gamma_{ow})$ sous le nom de *coefficient d'étalement*. Sa valeur indique la tendance à la formation d'un film :

$F_s = 0$, équilibre ;

$F_s < 0$, contraction de la couche en gouttelettes ;

$F_s > 0$, étalement de la couche huileuse jusqu'à ce que toute la surface aqueuse soit couverte ; si la surface offerte est infiniment grande, les molécules tendent à s'écarter indéfiniment les unes des autres en formant une couche « gazeuse ».

Si l'on saupoudre de talc la surface, l'étalement se traduit par un écartement des particules de talc (cet artifice est dû à DEVAUX).

Quelles sont les substances susceptibles de former des films par écartement indéfini de leurs molécules ?

Ce ne sont ni les substances totalement hydrophobes (par exemple l'huile de paraffine) qui se présentent sous forme de gouttelettes ou de lentilles à la surface de l'eau, ni les substances complètement hydrophiles qui se dispersent dans la solution.

Pour s'étaler à la surface de solutions aqueuses, les molécules doivent posséder une « tête » hydrophile polaire et une « queue » hydrophobe apolaire. C'est l'attraction du groupe polaire pour l'eau qui étale le corps, et la « queue » hydrophobe l'empêche de passer en solution.

Ces vues, dues à LANGMUIR, n'ont cessé depuis 25 ans de se montrer fécondes.

A côté des groupes polaires tels que $-\text{OH}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{SO}_3\text{H}$, $-\text{COOH}$, qui sont les plus hydrophiles, les doubles et les triples liaisons contribuent à accroître l'affinité de la molécule pour l'eau. Le schéma suivant représente les différentes positions d'une molécule d'acide oléique au cours de la compression (RIDEAL) [89] (voir page suivante fig. 1).

Des groupes fortement dissociés électrolytiquement, donc ayant pour l'eau une grande attraction (par exemple $-\text{SO}_3\text{H}$, $-\text{N}(\text{CH}_3)_3\text{Cl}$) doivent être portés par une chaîne d'au moins 20 atomes de carbone pour que le film puisse exister et présente une grande stabilité.

Si la constante de dissociation est moins grande (par exemple $-\text{COOH}$, $-\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{CONH}_2$, $-\text{CN}$) les films stables existent si le nombre d'atomes de carbone est voisin de 16.



FIG. 1.

Par contre, si l'hydrophilie est faible ($-\text{OCH}_3$ par exemple), des films superficiels ne se forment que transitoirement.

À partir de 28 atomes de carbone, les films perdent leur stabilité et les molécules se condensent en amas de plusieurs molécules d'épaisseur (ADAM)[1].

L'orientation moléculaire. — Les molécules étant ainsi *ancrées* à la surface de l'eau, elles sont orientées toutes dans le même sens, la « tête » polaire dans l'eau, la « queue » apolaire au-dessus. Elles ne sont cependant pas immobiles mais se déplacent dans le plan de la surface, c'est-à-dire dans deux dimensions, par suite de l'agitation thermique, et les têtes tendent à se distribuer uniformément sur toute la surface.

Variations du potentiel de surface. — Une couche superficielle constituée, par l'ensemble des dipôles de toutes ses molécules orientées, une couche double d'HELMHOLTZ.

Soit n le nombre de molécules par centimètre carré, μ la composante verticale du moment électrique d'une molécule ; la variation ΔV du potentiel de surface produite par la présence de la couche double est :

$$\Delta V = 4\pi n\mu.$$

Si le moment électrique calculé d'après cette relation est du même ordre de grandeur que celui qu'on mesure expérimentalement par des méthodes diverses (10^{-18} U. E. S.), sa valeur est plus petite et l'écart variable avec la nature des ions se trouvant dans la solution sous-jacente. Pour expliquer ce désaccord, SCHULMAN et RIDEAL [100] pensent que ΔV est la somme de deux termes :

$$\Delta V = 4\pi n\mu + \delta V$$

le second terme correspondant au *potentiel électrocinétique* ξ modifié par la présence de la couche.

La structure générale de l'interface air-liquide est alors :

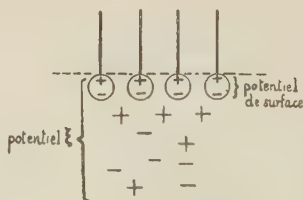


FIG. 2.

De plus, le facteur $4\pi n\mu$ varie quand les molécules se déforment ou quand

elles s'orientent obliquement ; c'est ce qui se produit quand commencent à jouer les forces de cohésion entre molécules voisines.

Etat physique des couches. — Les états *gazeux* ou, au contraire, *condensés* des films sont déterminés par l'intensité de l'adhésion *latérale* des chaînes hydrocarbonées et des groupes polaires des molécules.

Dans les films *gazeux*, les molécules se meuvent indépendamment les unes des autres, quoiqu'il puisse y avoir un certain degré d'agrégation.

Les films *condensés* sont *solides* ou *liquides*.

Changements d'état. — Les changements d'état dans les couches superficielles peuvent être suivis à l'aide de quelques grains de talc déposés à la surface ; si la couche est fluide (*liquide* ou *gazeuse*) les grains tourbillonnent sous un jet d'air léger ; si elle est solide les particules perdent toute mobilité, accusant la rigidité de l'ensemble de la couche ; lorsqu'il s'agit d'un *gel* les grains se déplacent de quelques millimètres, mais reviennent à leur place dès que l'on cesse de souffler, ce qui met en évidence l'élasticité du film.

L'étude de la rigidité des films se fait d'une façon plus précise au moyen du viscosimètre superficiel de LECOMTE DU NOUY [57].

Les changements d'état ou de phase sont sous la dépendance :

- 1° de la température,
- 2° de la pression,
- 3° du pH,
- 4° de la modification du dipôle permanent de la molécule, par exemple lorsqu'un — OH est remplacé par un — COOH,
- 5° de la présence de l'ion Ca^{++} sous le film.

Couches solides. Isothermes de sublimation. — L'acide stéarique, déposé en cristaux à la surface de l'eau, ne s'y étale pas comme une goutte d'huile ; pour former les couches monomoléculaires, il faut employer une solution éthérée ou benzénique.

Si on étale de l'acide stéarique sur une surface infinie, ou sur une surface finie plus étendue que celle qui correspond à une surface moléculaire moyenne de $24,5 \text{ \AA}^2$, l'acide stéarique est « sublimé » ou « gazeux ». Dès que la surface moléculaire est restreinte à $24 \text{ \AA}^2$, les forces de cohésion entre molécules voisines commencent à jouer. Pour cette valeur de la surface, les molécules sont *inclinaées* sur la surface de l'eau, les têtes polaires étant toutes dans le même plan ; par compression à $21 \text{ \AA}^2$, l'assemblage devient plus

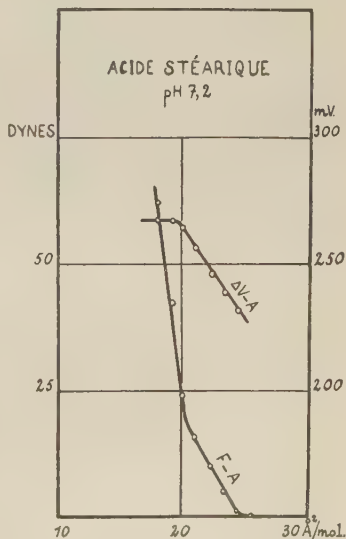


FIG. 3.

serré, certaines molécules plongeant davantage ; elles sont toujours inclinées : l'acide stéarique est passé de la forme cristalline C (surface de « base » de la molécule égale à $24 \text{ \AA}^2$) à la forme A (surface de « base » égale à $21 \text{ \AA}^2$). A ce moment une diminution de surface très faible provoque un accroissement de pression très grand, et la couche se brise vers 18 à $19 \text{ \AA}^2$, surface limite qui correspond à la section droite de la molécule. Les molécules sont alors dressées perpendiculairement à la surface, et serrées les unes contre les autres. Le film cesse d'être compressible.

Fusion des couches solides. — LABROUSTE et DERVICHIAN [28] ont suivi cette transformation sur des couches de triglycérides au cours de l'élévation de température.

Couches liquides. — Les isothermes de films de trioléine ou de cholestérol (fig. 13) ne présentent pas de partie rectiligne ni d'angle dans la partie ascendante ; la couche ne se brise pas lorsqu'on la comprime au delà de la surface limite, mais des gouttelettes apparaissent, qui correspondent à la saturation.

Couches gazeuses. — En poussant assez loin l'extension des couches, l'état gazeux apparaît. Les isothermes $F = f(A)$ sont alors représentées par l'hyperbole :

$$F.A = KT.$$

Cette hypothèse de LANGMUIR [53] a été vérifiée par ADAM et JESSOP puis GUASTALLA.

Mais c'est surtout dans les couches d'adsorption que cet état est facilement obtenu.

Les corps possédant un groupe polaire à chaque extrémité de la chaîne hydrocarbonée forment les films gazeux les plus parfaits : c'est le cas des diacides et de leurs esters. Ces molécules, qui possèdent deux points d'attache à la surface de l'eau, gisent à plat.

Etats métastables (RIDEAL) [90]. — On a observé des films métastables qui, par compression, peuvent supporter des pressions plus élevées que les pressions superficielles des films en équilibre avec des cristaux ou des gouttelettes du corps.

Etats mésomorphes. — Les couches monomoléculaires présentent parfois les caractères des cristaux liquides ; cet état apparaît au cours de la transformation de LABROUSTE, lors du passage de l'état solide à l'état liquide, par élévation de température (DERVICHIAN) [28].

Méthodes générales d'étude des couches monomoléculaires.

La présence d'une couche monomoléculaire à la surface d'un liquide modifie les propriétés mécaniques, optiques et électriques de cette surface. Chacune de ces modifications est à la base de méthodes d'investigation plus ou moins précises, mais donnant en général des renseignements différents sur la structure de la couche.

I. — Méthodes mécaniques.

Elles doivent introduire le moins de perturbations possible dans l'état de la surface.

La méthode du tube capillaire ne peut être employée, ni la méthode stalagmométrique, en raison de la possibilité d'existence de films autres que des films d'adsorption.

Les méthodes utilisées mesurent soit l'abaissement de tension superficielle, soit, directement, la pression superficielle du film.

A) Mesure de la tension superficielle. — Le principe de l'appareil de LECOMTE DU NOUY consiste à mesurer la force nécessaire pour arracher un anneau de platine placé dans le plan de la surface d'un liquide ; cette force est obtenue par la torsion d'un fil horizontal. C'est le premier appareil qui a permis la mesure commode, rapide et précise au dixième de dyne près, des tensions superficielles et interfaciales. Il vient d'être muni d'un dispositif d'enregistrement.

CARY et RIDEAL [40] ont employé un appareil qui dérive du même principe, mais où la force nécessaire à l'arrachement de l'anneau est produite par une balance à chaîne ; ils mesurent la tension superficielle juste au moment où la rupture va se produire par arrachement, mais sans réaliser cet arrachement, pour ne pas déchirer le film.

Le principe de la méthode de WILHELMY est différent : on mesure l'attraction vers l'intérieur du liquide (due à la tension superficielle) d'une lamelle de verre. Cette méthode ne perturbe pas l'équilibre superficiel et permet facilement des enregistrements ; DERVICHIAN [28] et DOGNON [32] y ont recouru.

B) Mesure des pressions superficielles. — Les appareils mesurant directement dans le plan de la surface d'une solution la pression superficielle d'un film dérivent tous de l'appareil de LANGMUIR : imaginons un cadre rectangulaire, flottant sur l'eau, dont l'un des côtés est mobile ; une barrière parallèle à ce côté s'appuie sur deux bords opposés du cadre et le partage en deux compartiments ; le déplacement de cette barrière permet d'en faire varier les aires. On réalise ainsi un corps de pompe limité par deux des côtés fixes du cadre, par le côté mobile flottant et par la barrière jouant le rôle de piston. Si l'on dépose à l'intérieur de cette surface une trace de matière grasse, la partie mobile tend à s'écarter du cadre ; une certaine force, opposée et égale à la pression superficielle, est nécessaire pour ramener cette bandelette flottante à sa position initiale.

Dans l'appareil de LANGMUIR, le cadre et le flotteur sont en papier paraffiné, et la force qui maintient en place la bandelette mobile est obtenue au moyen d'une balance.

MARCELIN [78] a remplacé le papier paraffiné qui présente l'inconvénient de se gaufrer, par du mica paraffiné ; l'appareil est ainsi rendu rigide ; la pression superficielle est compensée par la torsion d'un fil. L'appareil qu'il décrit en troisième lieu mesure la pression superficielle par l'amplitude du déplacement d'une très fine lame de mica formant le fond d'un « baromètre anéroïde » superficiel.

Les autres appareils décrits dans la littérature (GORTER [38], GUASTALLA [40], RIDEAL [100]), ne diffèrent que par des détails de technique, dans le but de rendre étanche le joint entre la bandelette mobile et les parois latérales du cadre.

Ces appareils permettent l'étude des variations de pression superficielle en fonction de la concentration superficielle de la substance étalée, et de tracer les courbes isothermes. On obtient ainsi des renseignements sur la grandeur moléculaire, les interactions moléculaires et l'influence de la nature de la solution-support sur le film.

II. — Méthodes optiques.

Dans le plan du film, les propriétés optiques sont similaires à celles des solutions; elles sont différentes dans la direction perpendiculaire à la surface (RIDEAL) [90].

L'examen ultramicroscopique sur fond noir des films monomoléculaires a été mis au point par ZOCHER et STIEBEL [112].

Les méthodes qui permettent d'effectuer des mesures étudient soit la polarisation elliptique de la lumière réfléchie par le film, soit l'intensité de la lumière diffusée par les surfaces.

A) Quand de la lumière polarisée à 45° du plan d'incidence tombe sous l'incidence brewstérienne, le rayon réfléchi est légèrement polarisé elliptiquement. On définit le *coefficient d'ellipticité* comme le rapport de l'amplitude du vecteur d'onde du plan d'incidence au vecteur perpendiculaire à ce plan, c'est-à-dire comme le rapport des intensités lumineuses reçues à travers un nicol parallèle au nicol polariseur initial, et un nicol perpendiculaire. Ce coefficient est nul ou très faible à la surface d'un liquide pur. La présence d'une couche d'adsorption ou d'un film le modifie notablement.

DRUDE [33] a établi une relation entre l'épaisseur δ de la couche, le coefficient d'ellipticité K et les indices de réfraction n_1 , n_2 , n_F des deux milieux et de la couche pour une longueur d'onde λ ; elle peut être écrite sous la forme suivante (RIDEAL) [88] :

$$\delta = \frac{K\lambda}{\pi} \frac{n_F^2(n_1^2 - n_2^2)}{\sqrt{n_1^2 + n_2^2}(n_F^2 - n_1^2)(n_F^2 - n_2^2)}.$$

BOUDET [9] a étudié par cette méthode des solutions d'acides gras de faible poids moléculaire; les résultats varient régulièrement avec le nombre d'atomes de carbone et se raccordent pour les valeurs trouvées lorsqu'on forme des couches superficielles des homologues supérieurs.

B) Une deuxième méthode plus simple consiste dans la détermination de la quantité de lumière diffusée par les surfaces de liquides purs ou recouverts d'un film.

La surface d'un film n'est jamais tout à fait plane en raison de l'agitation thermique des molécules, dont les mouvements dépendent de la tension superficielle. Aussi, de la lumière frappant la surface sous l'angle critique, ne subira pas de réflexion totale, mais une diffusion partielle.

RAMAN et RAMDAS [87] ont montré que la diffusion superficielle de l'eau est

plus que doublée en étalant à la surface une quantité d'acide oléique suffisante pour arrêter les mouvements du camphre; elle augmente énormément si l'on ajoute encore plus d'acide.

III. — Méthodes électriques.

La mesure de la variation de potentiel au passage de la couche superficielle se fait en réalisant une pile à gaz; au-dessus de la surface liquide, l'air est rendu localement conducteur par ionisation au moyen d'une électrode isolée recouverte d'un radioélément α (polonium). Le liquide est relié par un pont à une électrode au calomel. La différence de potentiel entre l'électrode au polonium et l'électrode au calomel est la somme du potentiel de l'électrode au calomel et de celui de la couche double interfaciale.

La présence d'une couche monomoléculaire produit une variation considérable ΔV du potentiel, que l'on mesure par opposition avec un potentiomètre et un appareil de zéro très sensible (électromètre à quadrants ou de LINDEMANN). Tel est le principe de la méthode imaginée par GUYOT [45, 46] et qui a été utilisée par la majorité des auteurs.

DERVICHIAN [28] utilise comme appareil de zéro une lampe électromètre associée à un galvanomètre. La sensibilité augmente mais le dispositif perd de sa simplicité, en raison de la nécessité d'une amplification.

La valeur de ΔV , portée dans la relation $\Delta V = 4\pi n\mu$, permet le calcul de la composante verticale du moment électrique *apparent*. Inversement, l'écart entre ΔV observé et ΔV calculé d'après cette relation permet d'apprécier l'influence des ions, ou encore l'importance des phénomènes d'absorption sous le film.

Lorsqu'on trace la courbe de la variation du potentiel en fonction de l'aire moléculaire, on constate que des points singuliers correspondent à ceux de l'isotherme $F = f(A)$. Lors de la compression ou de la détente, la valeur de ΔV varie dans une certaine échelle à peu près proportionnellement à la concentration superficielle.

De plus, l'étude des courbes $\Delta V = f(A)$ donne des renseignements sur l'assemblage plus ou moins serré des molécules.

CHAPITRE II

LES COUCHES MONOMOLÉCULAIRES DE PROTÉINES

Parmi les propriétés des protéines, beaucoup sont relatives à des phénomènes superficiels. Aussi a-t-on pu espérer avec raison que l'étude des films protéiques donnerait des renseignements nouveaux sur ce groupe de substances.

C'est à GORTER et GREDEL [37] que l'on doit la première technique d'étalement des films protéiques : un volume donné d'une solution de la protéine étudiée, mesuré à l'aide d'une micropipette, est déposé à la surface d'une solution aqueuse. Cette technique a été utilisée dans la plupart des travaux.

Etalement des films protéiques à partir d'une parcelle de substance sèche.

— Une parcelle de protéine, pesée à la balance de torsion, est projetée sur l'eau. HUGHES et RIDEAL [51] ont expérimenté avec la gliadine, mais ses propriétés sont assez différentes de celles des autres protéines.

Cette méthode d'étalement a été utilisée aussi pour la préparation de films de sérumalbumine, d'ovalbumine et d'édestine ; les aires trouvées sont plus petites que celles des films des mêmes protéines formés à partir d'une solution. Très probablement, la protéine pesée ne s'est pas étalée en totalité.

Dans l'exposé des travaux qui va suivre, c'est toujours la technique de GORTER qui a été utilisée.

Etalement des protéines sur des solutions salines moyennement concentrées. — Lorsque la concentration des solutions supports est de l'ordre de $N/10$, le processus d'étalement est complet et relativement rapide : la mesure des variations de potentiel montre qu'il est terminé 10 à 20 minutes après le dépôt de la protéine à la surface aqueuse.

Si l'on fait varier le pH de la solution, on observe les faits suivants (PHILIPPI) [85] :

Certaines protéines seulement peuvent être étalées sur des tampons dont le pH est compris dans la zone de stabilité des molécules protéiques dissoutes, telle qu'elle a été définie par SVEDBERG [108]. Ce sont par exemple l'ovalbumine, la sérumalbumine, l'insuline, la pepsine. D'autres protéides ne pourront former des films que si le pH du support est *en deçà* ou *au delà* de cette zone de stabilité : les solutions doivent être très acides ou très alcalines. Or, on sait que dans ces conditions, la molécule est coupée en unités plus petites. Parmi les protéines qui ne peuvent être étalées qu'après cette scission, citons la protéine respiratoire du *Palinurus vulgaris*.

L'épaisseur des films protéiques est de 10 Å environ. Or, la plus petite dimension de la molécule est supérieure à cette valeur. Au cours de l'étalement

ment, *la forme de la molécule est donc modifiée* et, de globulaire, elle devient *plate*; simultanément son énergie libre diminue.

Étalement des protéines sur des solutions diluées. — Lorsque la concentration ionique est faible, de l'ordre de $N/1.000$ par exemple, l'étalement est long et peut être facilement suivi par les modifications du potentiel de surface.

Tandis que certaines protéines, comme la sérumalbumine ou la lactoglobuline, s'étalent *sur toute la surface* qui leur est offerte, d'autres n'en occupent qu'une certaine aire; c'est le cas de l'ovalbumine et de la pepsine. Il se forme évidemment une membrane protéique.

La durée d'étalement varie beaucoup avec le pH: ainsi de pH 2 à pH 3,5 et de 6 à 12 l'étalement de l'ovalbumine est si faible qu'il est pratiquement impossible de l'étaler dans ces deux zones, à moins que la concentration ionique n'augmente, auquel cas l'étalement devient complet pour tous les pH.

Le temps d'étalement est aussi fonction de la nature des ions de la solution: les anions le diminuent lorsque la charge de la protéine est positive, et les cations, quand la charge est négative; ce sont les ions polyvalents qui produisent le plus grand effet.

Homogénéité des films protéiques. — Dans tout ce qui précède, nous avons supposé que les films protéiques complètement étalés sont homogènes. Cela est montré d'une part par la valeur du potentiel de surface, qui est la même quelle que soit la région du film explorée, et d'autre part par le calcul de l'aire moyenne occupée par un résidu acide aminé: pour une valeur de la pression superficielle égale à zéro, cette aire est à peu près la même pour toutes les protéines et voisine de $21,6 \text{ \AA}^2$. C'est aussi la valeur a_0 de l'aire d'une molécule dans les films d'acides gras saturés. *Ceci indique que la disposition des résidus des chaînes latérales par rapport au plan aqueux est la même que celle des molécules d'acide gras* qui sont, comme on le sait, dressées normalement à la surface, ou peu inclinées sur elle. Cette surface est donc celle de la section droite de la chaîne hydrocarbonée, liée à un groupe aminoacide de la protéine, ou à la fonction acide dans la molécule d'acide gras.

Origine de la pression superficielle des films protéiques. — Elle est due pour une faible part à l'agitation thermique et aux forces électriques de répulsion, mais surtout à *l'affinité pour l'eau* des groupes polaires amenant l'hydratation du film, puis l'expansion des chaînes polypeptidiques à l'interface, et le « déroulement » de la molécule protéique.

Transformations à l'intérieur des couches monomoléculaires de protéines au cours de la compression. — Pour des pressions relativement faibles, le film subit une déshydratation; la pression augmentant, il se produirait un remaniement de la structure.

1° Le produit $\Delta V.A$ de la variation de potentiel par l'aire n'est constant que pour des surfaces supérieures à $0,95 \text{ m}^2/\text{mgr.}$, c'est-à-dire que dans cette région on n'observe pas de réorientation moléculaire.

Pour des aires inférieures à $0,95 \text{ m}^2/\text{mgr.}$ la compressibilité diminue brusquement; l'allure des courbes $F = f(A)$ et $\Delta V = f(A)$ est alors semblable à celle des films liquides d'acides gras et PHILIPPI attribue cette baisse de la compressibilité à la déshydratation du film, ou à la réorientation des molécules d'eau. Le phénomène de *déshydratation* prend fin vers $0,77 \text{ m}^2/\text{mgr.}$

C'est à ce départ des molécules d'eau, qui ne se produit pas instantanément, que l'on doit d'observer de l'hystérésis lorsque le film est soumis à une pression supérieure à 10 dynes/cm.

2° Les transformations intramoléculaires intervenant au cours de la compression seraient les suivantes (DERVICHIAN) [29, 30, 31] : aux faibles pressions, la couche est fluide et formée de particules planes, symétriques dont nous décrirons la structure dans le paragraphe suivant. A pressions plus fortes, le film *liquide* se transforme en *gel* superficiel : la molécule a pris la structure fibreuse, mais la transformation est encore réversible. Vers $20\text{--}25 \text{ dynes/cm.}$ la réversibilité cesse ; la couche commence à se plisser perpendiculairement à la direction de compression. En réduisant toute la couche à un fil, DEVAUX a constaté que ce fil est insoluble, ne se réétale pas et l'examen aux rayons X a prouvé qu'il était constitué de kératine β .

Structure du film protéique. — Nous l'examinerons à la fois dans le plan du film et dans le plan perpendiculaire à la surface aqueuse.

1° Dans le plan du film, la chaîne principale polypeptidique parfaitement flexible, serait pliée pour permettre aux affinités des différents groupes ($-\text{COOH}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{CONH}_2$) des chaînes latérales de se satisfaire.

DERVICHIAN [29, 30, 31] a émis une hypothèse sur les positions relatives des différents résidus fixés sur la chaîne principale : se basant sur le fait que les dimensions atomiques laissent juste la place pour un arrangement alterné des chaînes latérales, c'est-à-dire avec les *chaînes polaires dirigées vers l'eau* et les *chaînes apolaires vers l'air*, il considère que les têtes des résidus aminoacides se trouvent au sommet d'un réseau hexagonal ; d'autre part, en joignant les positions des acides aminés de même espèce, il obtient, superposé au réseau hexagonal élémentaire, une superstructure de même symétrie. Le film protéique serait assimilable à un cristal mixte à deux dimensions.

La symétrie hexagonale impose comme conséquence que le nombre des aminoacides d'une même espèce soit de la forme $2^n \cdot 3^m$ et l'on retrouve ainsi la règle de BERGMANN et NIEMANN.

L'assemblage des chaînes latérales constitue un feuillet rappelant celui des corps smectiques. Du fait de l'orientation et de l'assemblage imposé par les chaînes latérales, les liaisons peptidiques subissent une certaine contrainte et l'ensemble est dans un état métastable. C'est le passage à un état stable, où la chaîne polypeptidique est libérée, qui constituerait l'essentiel de la *dénaturation*. La molécule de protéine *en solution*, au lieu d'être globulaire, serait constituée par l'accolement de deux feuillets plans, selon DERVICHIAN.

2° Dans le plan perpendiculaire à l'interface, nous nous rendons compte que la structure du film est essentiellement régie par la disposition des groupes hydrophobes et hydrophiles. Les groupes polaires situés sur les chaînes latérales, par suite de leur affinité pour l'eau, appliquent et tirent

la chaîne principale à la surface, produisant à la fois l'étalement et le « déroulement » de la molécule, ou la séparation et l'étalement des deux feuillets d'acides aminés dans l'hypothèse de DERVICHIAN. La majeure partie des restes polaires se dirige vers l'eau, la plus grande partie des résidus hydrophobes vers l'air, ceci dans la mesure de la place disponible. D'ailleurs, l'analyse chimique montre que le rapport entre restes apolaires et polaires est sensiblement égal à l'unité.

Les liaisons peptidiques sont douées de fortes affinités réciproques, surtout si la charge du film est basse. Pour les satisfaire, la chaîne principale se replie et les chaînes latérales prennent une direction presque perpendiculaire au plan aqueux. Cette orientation est confirmée par les valeurs du potentiel, qui sont voisines de celles qu'on observe sur les films de monoacides gras ; si ces associations de liaisons peptidiques n'existaient pas, les chaînes latérales seraient probablement couchées, et les pressions superficielles correspondraient à des aires plus grandes, de valeurs voisines de celles des films de diacides gras.

Enfin, il faut signaler aussi les associations *intermoléculaires* entre groupes polaires de signes contraires.

Il résulte de tout cela que, dans la molécule protéique étalée, on peut distinguer trois zones superposées :

a) la zone supérieure est composée de courts résidus hydrocarbonés et hydrophobes.

Cette zone se comporte comme une couche monomoléculaire d'un hydrocarbure liquide, les affinités mutuelles entre les courtes « queues » paraffiniques étant insuffisantes pour produire la solidification ;

b) la zone inférieure est formée de l'ensemble de radicaux identiques ou semblables à ceux des acides gras et des amines inférieurs.

S'ils sont également chargés, ils montrent une grande tendance à s'éloigner les uns des autres, comme les molécules d'un film *gazeux*. Mais des associations inter- ou intramoléculaires peuvent lier des groupes polaires de signes opposés ; dans ce cas, la couche inférieure, de « gazeuse » devient *cohérente*. Quel que soit son état, cette couche du film possède une forte tendance à l'étalement ;

c) dans la zone intermédiaire, on observe des associations entre liaisons peptidiques ; elle se comporte comme une couche monomoléculaire liquide ou solide ; elle est très *élastique*.

En conclusion, si les films d'acides gras doivent être considérés comme analogues à des films doubles, les films superficiels de protéines seront regardés comme analogues à des films triples.

Propriétés électriques des films protéiques. — Cette structure de la molécule de protéine étalée est aussi confirmée par l'étude électrique du film.

Les variations du potentiel de surface sont dues :

1° aux changements de l'*ionisation* des groupes polaires du film en fonction du pH et, par conséquent, de la charge de la protéine ;

2° à la présence d'ions diffusibles sous-jacents, compensant la charge électrique du film. Ce sont des ions extérieurs, fixés *par adsorption* ;

3° à la *réorientation* des molécules d'eau quand la charge du film varie ;

4° à la *polarisation* des atomes du film pour la même raison. Toute

augmentation de la concentration ionique de la solution produit une diminution du ΔV .

Les courbes représentant les variations de la pression en fonction du pH, à surface constante, présentent un minimum au pH_i indiquant que les points isoélectriques de la protéine dissoute ou étalée sont les mêmes.

Régions de stabilité du film en fonction du pH. — Pour certaines protéines, les courbes représentant la pression en fonction du pH, à surface constante, montrent que la pression varie peu au-dessus du point isoélectrique : il se forme un film cohérent (ovalbumine) ou bien encore, dans le film, prennent naissance de petits flots cohérents invisibles (sérumalbumine).

Pour l'ovalbumine et la pepsine, qui forment des films cohérents visibles macroscopiquement, il est possible de définir une région de pH où la couche est stable ; en dehors de cette région, la cohésion du film est bien moindre, et le film s'étale, par suite des forces osmotiques et électriques qui agissent à la surface.

La sérumalbumine et l'insuline présentent aussi de telles zones de stabilité. Cette propriété n'est cependant pas générale ; c'est le cas de la lactoglobuline. Ceci est dû à des différences dans la solubilité superficielle des molécules : lorsqu'elle est nulle, toutes les molécules sont associées en un film cohérent ; sinon, une partie seulement des molécules demeure associée en flots, le reste étant diffusé dans le plan, formant une solution à deux dimensions. Cette *solubilité* est minimum au pH_i ; aussi, est-ce à ce pH que l'on observe la plus forte tendance à former un film cohérent.

L'apparition des films cohérents est due à la formation de liaisons intermoléculaires. L'expansion des films n'aura lieu que si ces liaisons sont brisées, soit en zone acide, soit en zone alcaline.

Quant aux protéines qui ne présentent pas de surface minimum au point isoélectrique, leur solubilité superficielle est constante autour du point de charge nulle.

CHAPITRE III

RÉACTIONS CHIMIQUES EN COUCHES MONOMOLÉCULAIRES

Dans les phénomènes vitaux, l'importance du rôle joué par les interfaces est capitale : en effet, les cellules et les vaisseaux des êtres organisés ont, par rapport à leur volume, une surface énorme, et une quantité exceptionnellement grande de matière et d'énergie s'y trouve localisée dans des molécules *orientées*. Aussi, l'étude de l'interface, considéré comme une nouvelle *phase*, et celle des réactions chimiques qui s'y produisent, se sont-elles révélées particulièrement fécondes.

C'est à RIDEAL et son école que l'on doit le développement de cette nouvelle méthode d'investigation, dont l'avantage essentiel consiste dans le fait que les molécules d'une couche superficielle peuvent s'orienter de façon très différente selon la valeur de la pression à laquelle on soumet le film ; on leur donne ainsi le plus de chances de réagir avec une ou plusieurs molécules voisines, et il existe souvent une position optima qui favorise ou permet ces interactions, dont la cinétique est fonction de l'orientation moléculaire.

Aux interfaces, on a pu mettre en évidence la formation de complexes stables, qui ne pourraient se former en solution tridimensionnelle, ou qui n'y seraient pas décelables, si les constituants étaient tous solubles.

Au point de vue expérimental, cette méthode de recherche est évidemment limitée aux substances pouvant former des films et aux substances solubles et capillaroactives ; elle a surtout été employée pour l'étude des complexes de haut poids moléculaire.

Les réactions sont suivies par les modifications de la pression superficielle et du potentiel de surface. On opère dans un appareil du type LANGMUIR ; la partie de la surface de la solution qui n'est pas recouverte par le film sert de témoin. Le réactif est injecté sous le film à la concentration de 10^{-5} à 10^{-6} ; puisqu'il possède une activité capillaire, il produit un changement $\Delta\gamma$ de la tension superficielle de la portion de surface non recouverte par le film. Aussi si F' est la pression superficielle mesurée, la pression superficielle réelle F est :

$$F = F' + \Delta\gamma.$$

Lorsque le réactif est insoluble dans l'eau, on peut préparer des films mixtes du corps à étudier et du réactif. Ces films mixtes présentent parfois des propriétés différentes ou une stabilité plus grande que celles des films de chacun des composants seuls.

Lors de l'étude des complexes entre macromolécules, RIDEAL et ses collaborateurs ont donné des tests grâce auxquels on peut déceler certains complexes en solution ; ce sont :

1° l'hémolyse ou l'inhibition de l'hémolyse suivant la nature des corps en présence et des réactions qui se produisent. Ainsi l'activité hémolytique du saponoside est complètement inhibée par la présence de cholestérol avec lequel il forme un complexe ;

2° l'empêchement de la précipitation des sels de métaux lourds par l'un des réactifs (par exemple, lorsque le cholestérol et le cétylsulfate de sodium sont en proportions équimoléculaires) ;

3° dans certains cas, des complexes peuvent être formés par cristallisation simultanée des constituants.

I. — Réactions entre les molécules du film et celles qu'on introduit dans la solution-support.

Les travaux de RIDEAL et de ses élèves montrent que la grandeur et l'étendue de l'interaction entre un film monomoléculaire et une substance dissoute dans la solution sous-jacente dépendent :

1° de la nature chimique, du nombre des groupes polaires des deux espèces moléculaires et des forces d'attraction de COULOMB entre ces groupes ; l'association est très influencée par de petits changements de la valeur des moments électriques ;

2° des forces de cohésion dites de VAN DER WAALS entre restes apolaires ;

3° de la pression superficielle du film ;

4° de la concentration du corps dissous ;

5° du pH de la solution et de sa concentration en sels neutres ;

6° de la configuration stéréochimique de la molécule tant en ce qui concerne les groupes polaires que la partie apolaire.

Les associations moléculaires ne sont pas en général de nature purement chimique, et la cristallisation sépare les constituants des complexes labiles, qui cependant sont très stables lorsqu'ils sont orientés aux interfaces.

Les variations d'énergie libre, lors de la formation de complexes à deux dimensions, sont de l'ordre de 10.000 calories par molécule-gramme.

A côté de ces complexes moléculaires, on a étudié en couche monomoléculaire, des réactions d'hydrolyse [5, 34], d'oxydation [28, 35, 52], d'halogénéation [4, 28], de polymérisation [36] ; des actions diastasiques d'hydrolyse [50] et de protéolyse [98, 101] ; des réactions photochimiques [81, 82, 92] ; des réactions immunologiques [90].

On peut classer les résultats de la manière suivante (d'après COCKBAIN et SCHULMAN) [16].

A. — Absence d'interaction.

Lorsque l'injection d'une substance capillaroactive n'est pas suivie de réaction chimique avec les molécules du film, un changement de pression superficielle peut avoir lieu ou non :

a) si la pression superficielle F du film est supérieure à l'abaissement $\Delta\gamma$ de tension superficielle d'une solution de la substance injectée à la même concentration, il n'y a pas de changement de pression superficielle ;

b) si $F < \Delta\gamma$, quelques molécules du produit injecté s'adsorbent à la surface, jusqu'à ce que la pression superficielle totale soit égale à $\Delta\gamma$.

Si $\Delta\gamma$ est supérieur à la pression à laquelle le film s'affaisse, on observe le *déplacement* du film : ainsi à pH 7,2, l'oléate de sodium déplace la tripalmitine.

Le déplacement du film d'une espèce chimique par les molécules d'une autre espèce peut d'ailleurs être observé en couche monomoléculaire mixte : alors qu'un film d'acide oléique étalé sur ClH N/100 s'affaisse quand on le comprime à 35 dynes/cm., un film mixte d'acide oléique et d'alcool cétylique, également sur ClH N/100, est stable à une pression de 35 dynes/cm. ; mais une pression plus forte éjecte l'acide oléique de la surface, en y laissant un film d'alcool cétylique seul.

B. — Interaction polaire faible.

Les complexes stables sont alors très rares : ainsi la présence de saponoside sous un film d'acétate de cholestérol ne modifie que très légèrement la pression superficielle du film [402].

C. — Interaction polaire forte et forces de Van der Waals faibles.

Les substances ne réagissant avec les molécules du film *que par leurs groupes polaires* modifient le potentiel de surface, mais n'augmentent pas la pression superficielle ; de grandes concentrations du composé soluble (quelques centaines de milligrammes par litre) sont nécessaires pour modifier de façon appréciable les courbes pression-surface.

On n'observe pas la formation de complexes en proportions stœchiométriques. Il s'agit d'une simple adsorption du corps dissous. La rigidité du film n'est pas modifiée.

Lorsque la pression du film est basse, et que les molécules qui le constituent sont suffisamment écartées les unes des autres, des molécules du corps dissous arrivent à la surface de la solution, et se placent *entre* celles du film. Si l'on comprime le film, le composé soluble est expulsé, et forme une couche d'adsorption *au-dessous* du film, qui augmente souvent sa stabilité. C'est ce que représente le schéma suivant :

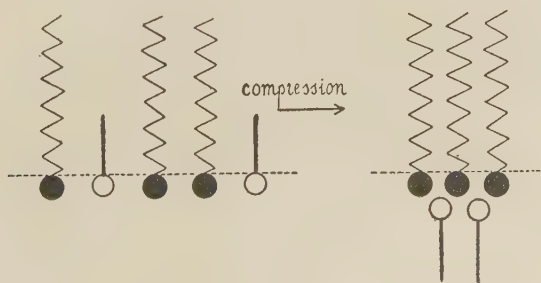


FIG. 4.

Nous citerons comme exemple l'interaction à pH 8 entre l'acide benzoïque et un film d'octadécylamine [46].

Au point de vue biologique, les substances ne réagissant que par leurs groupes polaires sont fortement adsorbées par les films protéiques, et sont des agents agglutinant ou sensibilisant les hématies; dans ce groupe se placent certains colorants comme le vert Janus [403].

D. — Formation de complexes en proportions stœchiométriques.

Lorsque les forces d'interaction polaire et les forces de VAN DER WAALS sont suffisamment grandes, l'introduction d'un corps soluble, à « queue » hydrophobe et « tête » polaire, sous un film de molécules dont la structure est analogue, produit un phénomène appelé « pénétration » par SCHULMAN [96, 402] : chaque groupe polaire s'ancre à un groupe polaire homologue du film; ce complexe d'adsorption, relativement peu stable, a une durée suffisante pour que la chaîne hydrocarbonée de la molécule dissoute s'introduise entre les groupes polaires du film et s'associe à la « queue » hydrophobe des molécules de la couche superficielle qui est ainsi *pénétérée* par la substance injectée; un alliage superficiel en résulte. Le processus de pénétration est terminé quand un film mixte en *proportion équimoléculaire* est formé. Le nombre des molécules du film ayant subitement doublé, la pression superficielle augmente; on peut constater des changements de 50 à 60 dynes/cm. sans que le film s'affaisse; sa stabilité est bien supérieure à celle des films de chacun des composants pris isolément. Dans certains cas, l'augmentation de pression est telle que le film passe par-dessus les barrières qui limitent son pourtour.

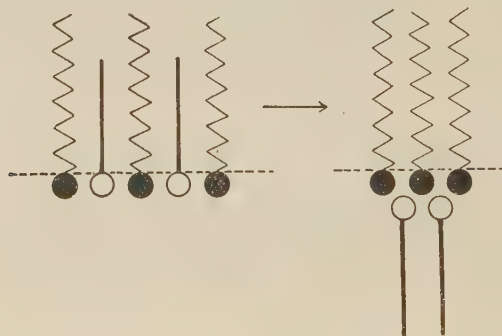


FIG. 5.

L'arrivée des nouveaux dipôles dans la couche superficielle modifie le potentiel de surface, qui devient égal à celui d'un film composé d'un mélange équimoléculaire des deux composants à sa plus haute compression.

Certaines molécules à grande affinité forment des complexes assez stables pour persister en solution; inversement, dans les cas où l'on connaît la formation de complexes en phase homogène, les constituants donnent d'excellentes interactions en film.

Si la pénétration est étudiée à pression constante [104], elle se traduit par une augmentation de la surface.

On peut distinguer deux types de films de pénétration :

a) ceux où l'un des composants est éjecté du film complexe à la pression où il s'affaisse. Ici, les forces de VAN DER WAALS sont moyennement fortes ; c'est par exemple le cas de l'association du cétylsulfate de sodium à l'isomère *cis* de l'alcool éthylénique de formule $\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_7 - \text{CH}=\text{CH} - (\text{C}_2\text{H})_7 - \text{CH}_2\text{OH}$. Ce film est compressible jusqu'à $40 \text{ \AA}^2$ par molécule d'alcool, surface correspondant au complexe 1/1 ; si l'on réduit encore plus la surface, la compressibilité diminue brusquement, le complexe est rompu et le cétylsulfate de sodium expulsé [102] (fig. 5).

Lorsque la pénétration est faible, l'association n'a plus lieu si l'on exerce sur le film une pression supérieure à celle qu'il doit atteindre après la pénétration ;

b) ceux dont les composants sont *inséparables par compression* et qui s'affaissent comme un film d'une seule substance.

Lorsqu'on introduit du cétylsulfate de sodium sous un film de l'isomère *trans* de l'alcool de l'exemple précédent, le film mixte qui en résulte peut être comprimé à 50 dynes/cm. ; la surface correspondante est de $40 \text{ \AA}^2$; il s'est formé un complexe dans le rapport 1/1. Une pression plus forte écrase le film. Une inflexion dans l'isotherme $F - A$, au point ($60 \text{ \AA}^2$, 30 dynes), correspond au complexe 1/2 ; la compression le détruit et conduit à l'association 1/1 plus stable. Les forces de cohésion de VAN DER WAALS sont ici très fortes (fig. 6).

Citons aussi le cas des amines à longue chaîne hydrocarbonée qui forment des complexes très stables avec les sulfates à chaîne polyméthylénique.

Lorsque les conditions de pénétration sont bonnes, un film mixte préparé par étalement d'une solution des deux substances en proportion équimoléculaire est stable, même si l'un des constituants est trop soluble pour former un film.

Comme dans le cas de films simples, la stabilité d'un film complexe est souvent augmentée par la présence d'une couche de molécules adsorbées (fig. 7) : le cholestérol et le cétylsulfate de sodium forment un complexe dans le rapport 1/1, mais la pression à laquelle le film

mixte s'écrase dépend de la concentration de la solution en cétylsulfate [104].

Stabilité des films complexes. — La pénétration et la stabilité dépendent :

1° du *complexe primaire entre groupes polaires* qui amorce la réaction. Toute modification de la grandeur du dipôle diminue la stabilité du film, par exemple l'estérification : le cétylsulfate de sodium ou le saponoside forment un film mixte très stable avec le cholestérol mais non avec l'acétate de cholestérol [102].

Lorsque le corps injecté possède deux ou plusieurs groupes actifs, ils peuvent contracter avec les groupes polaires du film une série de liaisons

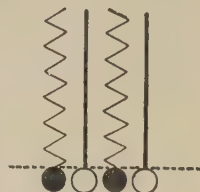


FIG. 6.

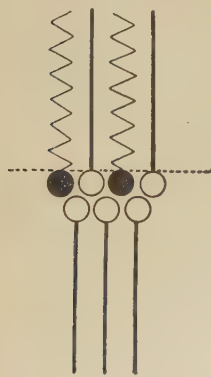
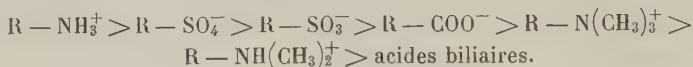


FIG. 7.

qui renforce la stabilité : c'est le cas de l'acide gallique et du tanin qui sera décrit ci-après.

Dans l'ordre d'activité décroissante, les groupes polaires se rangent comme suit :



Le groupe le plus actif des films est le groupe aminé;

2° des forces de VAN DER WAALS qui produisent l'adhésion des chaînes hydrophobes.

L'introduction d'une double liaison dans un cycle réduit considérablement la pénétration. Celle-ci ne commence qu'avec les molécules en C₉, si le groupe polaire qu'elles portent est très actif, en C₁₂, si ce groupe est de faible affinité. Le maximum d'activité correspond aux molécules en C₁₈ (acide stéarique). Les atomes de carbone peuvent indifféremment faire partie de chaînes aliphatiques ou de cycles. Tout raccourcissement de la chaîne diminue la pénétration.

Dans la série cyclique, l'activité commence avec les dérivés du diphenyle et augmente jusqu'à un maximum qui est atteint avec les acides biliaries, le diéthylstilbène, le benzopyrène et ses produits d'oxydation [91, 93];

3° la stabilité des films complexes dépend aussi du pH de la solution-support; ainsi, une légère modification de pH affecte considérablement la pénétration d'un film de cholestérol par la bilirubine [107];

4° de l'isomérisie *cis-trans* dépendent les possibilités d'alignement et d'adhésion des chaînes hydrophobes. A l'isomère *cis* correspond un assemblage plus lâche, les forces de VAN DER WAALS sont alors plus faibles. Un exemple a été donné plus haut à propos de la pénétration par le cétysulfate de sodium des deux isomères *cis* et *trans* de l'alcool éthylénique en C₁₈.

Relations stœchiométriques dans les films de pénétration. — Les différents cas suivants peuvent se présenter [104] :

1° les deux espèces moléculaires réagissant sont *toutes deux* de nature cyclique : elles ne forment des complexes qu'en proportions équimoléculaires; exemple : association cholestérol-digitonoside;

2° une couche monomoléculaire de dérivé cyclique est pénétrée par des molécules aliphatiques; les complexes qui peuvent se former résultent de l'association d'une molécule de série cyclique avec une, deux ou trois molécules acycliques. C'est le cas d'un film de cholestérol sous lequel on introduit du cétysulfate de sodium; la pression superficielle du complexe dépend de la concentration du réactif en solution;

3° le film étant composé de molécules de série aliphatique, deux de ses molécules peuvent se lier à une molécule cyclique introduite dans la solution;

4° si les deux espèces moléculaires considérées sont acycliques, trois molécules au plus du réactif en solution peuvent s'unir à une du film.

Tandis que les complexes dans les rapports 1/1 et 1/3 de ces systèmes sont stables, il n'en est pas de même de l'association 1/2 : lorsque, sous un film d'alcool cétylique, on introduit du cétysulfate de sodium, on observe la

formation immédiate du complexe 1/3 ; la compression expulse des molécules de cétylsulfate en nombre tel que l'association 1/4 plus stable soit réalisée. Le processus de l'éjection suit une loi monomoléculaire analogue à celle de la décomposition d'une combinaison chimique.

Lorsque l'association est très stable, la quantité de produit à introduire sous le film est infinitésimale, de l'ordre de grandeur nécessaire pour former une couche monomoléculaire d'adsorption.

L'extension de l'étude de ces systèmes a conduit à une « cristallographie à deux dimensions ».

Pénétration des films protéiques. — Les films protéiques sont pénétrés plus ou moins intensément par différentes substances, par exemple le saponoside [103], la bilirubine, certaines porphyrines [107] et des composés œstrogènes [93].

En examinant les possibilités de réaction du film avec des substances possédant des groupes actifs à des distances variables, on peut se rendre compte de la répartition des groupements correspondants du film. Dans la protéine dissoute, l'intervalle entre les groupes actifs est quelconque ; aussi, en solution, il est peu probable qu'une réaction qui nécessite deux ou plusieurs points de contact ait lieu ; par contre, en couche monomoléculaire, cet intervalle est *fonction de la pression* et il peut atteindre, au cours de la compression, une valeur telle que la réaction se produise.

Dispersion des films protéiques. — Lorsque l'agent pénétrant possède une longue chaîne hydrocarbonée, un nouveau phénomène se produit : c'est la *dispersion* du film dans la solution.

La stabilité des couches monomoléculaires de protéines est due, pour une part, à l'association mutuelle des unités protéiques. Au cours de l'étalement, les groupes polaires sont attirés par la surface aqueuse ; ces groupes sont surtout des restes aminés, carboxyliques, cétoniques et imidés ; les groupes aminés forment une association très solide avec les groupes carboxyliques, même sur une solution acide N/100. Ces dipôles situés aux extrémités des chaînes latérales peuvent appartenir à des molécules différentes. Les unités protéiques ainsi liées, forment un véritable réseau couvrant la surface aqueuse. Les groupes cétoniques et imidés réagissent à l'intérieur de la molécule en donnant des formes α -kératine qui augmentent la solidité du réseau.

Certains corps capillaroactifs renferment des groupes polaires ayant, pour ceux de la protéine, une affinité plus forte que l'affinité mutuelle des restes aminés et carboxyliques du film. Aussi, lorsque de telles substances sont introduites sous le film, les associations intermoléculaires sont brisées et le film se disperse dans la solution aqueuse [96].

Ce phénomène a lieu en trois minutes avec l'oléate de sodium, la psychosine, le cétylsulfate de sodium, l'acide taurocholique, à des concentrations de 10^{-6} et même 10^{-7} . L'effet est très marqué dans le cas du 4-4' dihydroxydipropylstilbène [93].

L'oléate de sodium disperse en particulier les films de gliadine, *en donnant un complexe lipoprotéidique soluble*. Les sulfates à longue chaîne hydrocarbonée agissent de même et le complexe formé est capillaroactif [98, 103].

E. — Associations polaires en points multiples.

Par introduction d'acide gallique ou de tanin sous un film d'octadécylamine, on produit un film cohérent, rigide, qui s'écrase et disparaît pour des pressions très faibles, de quelques dynes/cm. Les groupes polaires de *plusieurs molécules d'octadécylamine* se lient à ceux d'une seule molécule d'acide gallique ou de tanin. Le composé adsorbé forme ainsi la trame sur laquelle sont fixées les molécules du film ; leurs distances respectives ne peuvent plus changer par compression, d'où cet aspect de membranes rigides et fragiles.

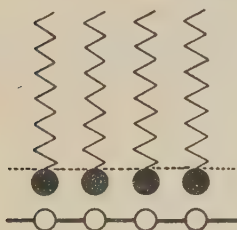


Fig. 8.

L'association est trop complexe pour que l'on puisse mettre en évidence des relations stœchiométriques.

La dimension des molécules est aussi importante dans l'adsorption que dans les phénomènes de pénétration [90] : le tanin n'est pas capillaroactif, pourtant son adsorption est immédiate et complète, à des concentrations où celle de l'acide gallique demande des heures.

Les films complexes acide gallique-protéine sont dispersés par les savons, tandis que les films mixtes protéine-tanin ne le sont plus : lorsque les molécules d'acide gallique sont liées électroniquement, comme dans le cas du tanin, la dispersion n'a plus lieu.

Des résultats analogues sont obtenus avec les silicates : après leur introduction dans la solution, si on leur laisse le temps de se polymériser, la dispersion par les savons ne se produit plus.

II. — Couches monomoléculaires mixtes.

Les molécules d'un film mixte préparé par étalement d'une solution du mélange des corps étudiés, peuvent s'associer par liaisons polaires ou par des forces de VAN DER WAALS.

MARSDEN et SCHULMAN [80] ont étudié des films en proportions équimoléculaires des composés suivants :

- acide stéarique-alcool cétylique ;
- octadécylamine-éther octadécylméthylque ;
- acide stéarique-octadécylamine ;

et ils rangent les forces d'attraction de COULOMB entre dipôles dans les trois groupes suivants, par ordre de grandeur décroissante :

- 1° deux ions de signes opposés (acide-amine) ;
- 2° ion-dipôle (amine-éther) ;
- 3° dipôle-dipôle (éther-alcool).

L'adhésion d'une chaîne hydrocarbonée à une autre chaîne est considérablement réduite par la présence d'une double liaison en son milieu ; si la molécule ne possède d'autre part qu'un faible dipôle, son affinité et ses associations seront faibles ; c'est par exemple le cas des films en proportion équimoléculaire d'acide oléique et d'alcool cétylique.

Le passage de la double liaison en position α - β (acide iso-oléique) augmente le moment du dipôle, et produit un effet de condensation des films mixtes.

Cette contraction de l'aire moyenne de deux molécules est considérable lorsque les deux chaînes sont saturées ; l'association qui en résulte n'est pas brisée par une compression, et l'on observe un écart entre le ΔV mesuré et celui calculé.

De fortes interactions sont observables avec les amines : à pH 2, l'association d'un acide gras (dont le film est liquide) avec une amine (dont le film est gazeux) conduit à un film mixte solide [96].

Au cours de leur étude de films mixtes d'alcools ou d'acides à longue chaîne, de glycérides, de sphingosine, de psychosine, SCHULMAN et HUGHES [99] ont constaté que, lorsque les molécules ne s'associent pas, le film est instable, et, si on le comprime, l'un des composants déplace l'autre ; par contre, si une réaction se produit entre les molécules en présence, les composants du film restent liés en une couche mixte stable.

L'introduction du cholestérol ou de la tripalmitine dans un film d'acide myristique diminue la surface occupée par molécule d'acide : l'amplitude des mouvements oscillatoires de la chaîne hydrocarbonée est réduite par l'inertie des grosses molécules de cholestérol ou de tripalmitine, sans qu'il y ait interaction.

Le cholestérol provoque aussi une contraction des films de lécithine [49].

Films mixtes lipoprotéidiques. — Parmi les complexes protéiques formés en couche monomoléculaire, un groupe particulièrement intéressant au point de vue biologique est celui des associations lipoprotéidiques.

NEURATH [84] a étudié l'un des cas les plus simples avec les films mixtes ovalbumine-myristate de potassium étalés sur CIII N/10. Pour un rapport acide/protéine supérieur à 97,5, il ne constate pas d'attraction ou d'interaction moléculaires. Si ce rapport est inférieur à 97,5 la surface par molécule, très grande, indique une diminution brusque de l'adhésion latérale entre molécules d'acide gras.

Des recherches plus nombreuses ont porté sur les films lipoprotéiques préparés à partir de la gliadine, parce que cette protéine est soluble dans l'alcool qui dissout aussi les lipides.

La trioléine, dans la proportion de 20 %, liquéfie les films de gliadine mais, chose curieuse, ne modifie pas leurs potentiels de surface. La tripalmitine a un effet analogue moins marqué [96].

Les films mixtes gliadine-acides gras sont instables sur des solutions neutres [103].

SCHULMAN et RIDEAL [103] ont décrit les propriétés du film mixte cholestérol (20 %) - gliadine (80 %) : il est *liquide* à basse pression, puis forme un *gel* qui se liquéfie à nouveau pour une pression de 22,5 dynes/cm. ; une compression plus forte lui donne les caractéristiques électriques et ultra-microscopiques d'un film de cholestérol. A la pression de 22,5 dynes/cm., le cholestérol est chassé au-dessus de la couche protéique, mais y reste lié : en effet le gel réapparaît dès que l'on diminue la pression.

La gélification n'apparaît pas sur une solution de pH inférieur à 7, point

isoélectrique de la gliadine ; elle ne se produit pas non plus si on augmente la proportion de lipoïde.

Il faut noter aussi l'effet du saponoside ; il pénètre les films de cholestérol ; son action est faible sur ceux de gliadine. Les films mixtes cholestérol-gliadine sont pénétrés, sauf aux pressions où le cholestérol est séparé de la solution par la couche protéique à laquelle il est lié.

Quelques films constitués de plusieurs espèces moléculaires ont été étudiés : le film mixte gliadine-sphingomyéline-cholestérol dans les proportions de 4/1/1 possède des caractéristiques semblables à celles du film mixte gliadine-cholestérol.

III. — Couches monomoléculaires à l'interface de deux liquides.

La mesure des pressions se fait au moyen d'un instrument analogue à l'appareil de LANGMUIR [90] ou bien avec le tensiomètre interfacial de LECOMTE DU NOUY [6] ; dans ce cas on fait varier la concentration superficielle non pas en diminuant la surface mais en augmentant la quantité de substance étalée.

Pour l'étude des potentiels, une électrode à grande surface est nécessaire, et l'épaisseur de la couche supérieure de liquide doit être très faible.

Les mesures effectuées à l'interface de deux liquides donnent des résultats assez différents de ceux que l'on obtient à l'interface eau-air.

A basse pression, tous les films sont dans un état d'expansion plus grand que ceux étalés à la surface de solutions aqueuses. A haute pression, les courbes se correspondent.

ASKEW [90] a étudié les films d'acide α -aminopalmitique, de triméthyl-cellulose, d'ovalbumine à l'interface eau-bromobenzène. Les chaînes hydrocarbonées, noyées dans le bromobenzène, ne peuvent plus s'attirer mutuellement, d'où cet état d'expansion plus grand.

L'ovalbumine s'étale *instantanément* à l'interface, et sa surface n'évolue plus avec le temps ; sa surface moléculaire semble être plus grande qu'à l'interface eau-air ; elle varie considérablement avec le pH : *elle passe par un maximum au pH_i à l'interface eau-air et, au contraire, par un minimum à l'interface bromobenzène-eau.*

SCHULMAN et COCKBAIN [97] ont étendu à l'interface eau-huile l'étude des interactions moléculaires, déjà observées à l'interface eau-air.

A l'interface eau-benzène, LANGMUIR et WAUGH [54] ont préparé des membranes lipoprotéïdiques constituées par deux couches monomoléculaires de protéine, séparées par une à deux couches de molécules de lécithine.

IV. — Les interactions moléculaires en films et les hypothèses qu'elles suggèrent en biologie.

Diverses interprétations nouvelles ont été proposées, de phénomènes biologiques classiques, à la lumière des faits précédents.

Une théorie très séduisante de l'hémolyse a été donnée dans le premier

mémoire de SCHULMAN et RIDEAL [102, 103] : les auteurs ont montré que les agents lytiques pénètrent les films de cholestérol, ou bien dispersent ceux de protéines. Par contre, les agents agglutinant ou sensibilisant les hématies sont seulement adsorbés sur les films protéiques ; ils ne sont pas pénétrants, et n'ont pas d'activité capillaire appréciable. Un mécanisme analogue a été proposé pour la cytolyse [93].

Les autres phénomènes biologiques envisagés ont été : la réaction de fixation du complément [90, 103] ; les activités œstrogènes [93] ou cancérogènes [45, 91] de divers composés cycliques. Les variations du potentiel de surface sous l'influence de certains corps ont été rapprochées des potentiels bioélectriques [90]. Une étude d'actions diastatiques a été faite sur des couches monomoléculaires d'ovalbumine soumises à l'attaque de la trypsine [101], ou sur des films de lécithine que l'on a étalés sur des solutions de venin de serpent [50] ; ces réactions sont assez différentes de celles que l'on observe en phase homogène.

DEUXIÈME PARTIE

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES SUR LES FILMS COMPLEXES A BASE DE SÉRUMALBUMINE HUMAINE

CHAPITRE PREMIER

APPAREILS DE MESURE

I. — Mesure des pressions superficielles à l'interface eau-air.

Principe de l'appareil. — Les pressions à mesurer étant supérieures à 0,5 dyne, nous avons eu recours à une modification de l'appareil de MARCELIN [78] : un corps de pompe rectangulaire est disposé dans le plan de la surface aqueuse; il est fermé par une soupape jointive, sur laquelle s'exercent les pressions à mesurer. La torsion d'un fil vertical la maintient contre son siège. Le déplacement d'un piston permet de modifier la surface du corps de pompe et, par conséquent, la concentration superficielle de la substance étalée.

Description. — Le mica paraffiné utilisé par MARCELIN pour la construction du cadre flottant est remplacé ici par du « Plexiglass », produit solide, transparent et vitreux résultant de la polymérisation de dérivés acryliques, qui se travaille très bien. Il possède la propriété de ne pas se laisser mouiller par l'eau et, grâce à cette propriété, il flotte sur l'eau malgré sa densité de 1,18.

Le cadre et le piston (fig. 9) ont été taillés dans une plaque de « Plexiglass » épaisse de 5 mm. La bandelette flottante formant soupape, plus mince, a 1,5 mm. d'épaisseur.

Le cadre, dont les dimensions intérieures sont de $10,2 \times 13$ cm., porte, sur ses deux côtés, deux réglettes R, graduées en millimètres, qui situent la position du piston. Les languettes de soutien de ces réglettes rendent le cadre solidaire des bords de la cuve; deux agrafes de métal A l'immobilisent.

Le piston P s'adapte, avec frottement, à l'intérieur du cadre; une bande de « Plexiglass » lui est soudée et forme repère devant les règles graduées.

La bandelette flottante F a une forme particulière destinée à éviter les fuites : dans l'appareil de MARCELIN, chaque fois que la bandelette s'écarte du corps de pompe, une certaine quantité de produit s'échappe au dehors,

d'où la nécessité d'étaler la substance pour chacun des points de la courbe. GUASTALLA [40] rend l'appareil étanche en reliant les bords de la bandelette aux parois du cadre par deux fils de soie vaselinés, mais cela introduit la complication d'installer ces fils au début de chaque expérience.

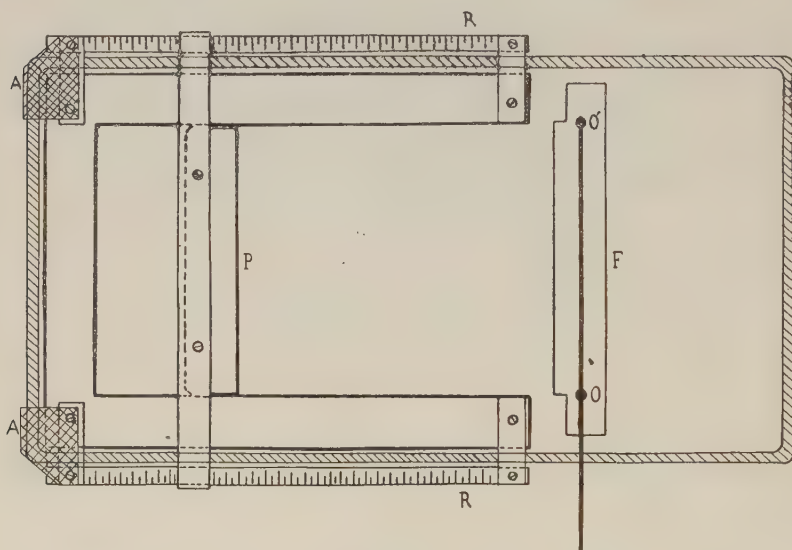


FIG. 9.

Le flotteur de notre appareil a été taillé de façon à présenter une partie rétrécie qui pénètre exactement à l'intérieur du cadre, sans frottement ; de chaque côté de cette partie rétrécie, les bords de la bandelette forment un joint parfait, lorsqu'ils sont appliqués contre les extrémités du cadre. La bandelette peut ainsi se déplacer d'un demi-centimètre sans que l'appareil cesse d'être étanche.

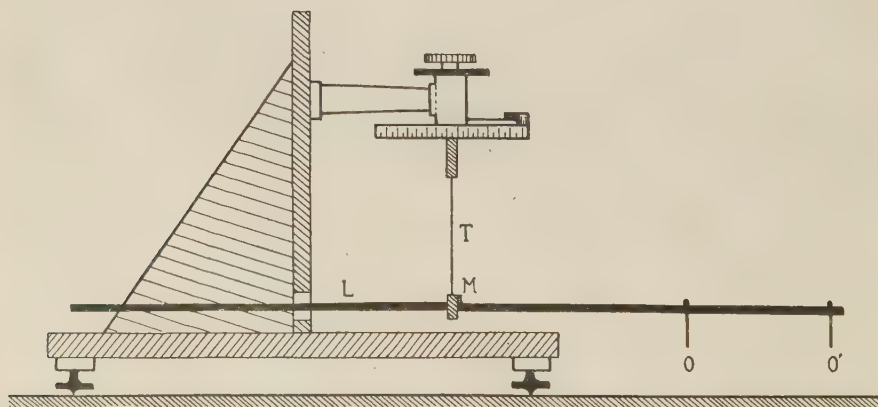


FIG. 10.

Le fil de torsion T en acier, de 0,2 mm. de diamètre et de 8 cm. de long, est fixé à son extrémité supérieure à une alidade, munie d'un vernier et mobile autour de l'axe d'un cercle gradué en degrés (fig. 10). Les rotations de l'alidade sont réalisées au moyen d'un bouton et d'une vis micrométrique.

Le fil d'acier est tendu par le poids d'une tige de laiton horizontale L formant levier; elle porte à l'une de ses extrémités deux fines aiguilles de verre O et O' qui la rendent solidaire de la bandelette flottante; ces aiguilles traversent librement deux petits trous percés dans le flotteur, de diamètre légèrement supérieur à celui des aiguilles.

Entre les expériences, la tige horizontale est mise au repos au moyen d'une fourchette (non représentée sur la figure 10).

Détermination de la constante de torsion du fil. — La période d'oscillation T du pendule de torsion constitué par le fil et la tige de laiton est donnée par la formule :

$$T = 2\pi \sqrt{\frac{I}{C}},$$

dans laquelle I est le moment d'inertie de l'oscillateur par rapport à l'axe de rotation, et C la constante de torsion représentant le couple pour un angle d'un radian.

Pour calculer C [8], on augmente le moment d'inertie d'une quantité I'; il lui correspond une période T'; puis d'une quantité I''; la période devient T'' :

$$T' = 2\pi \sqrt{\frac{I + I'}{C}}$$

$$T'' = 2\pi \sqrt{\frac{I + I''}{C}}$$

d'où l'on tire :

$$C = \frac{4\pi^2(I'' - I)}{T''^2 - T^2}.$$

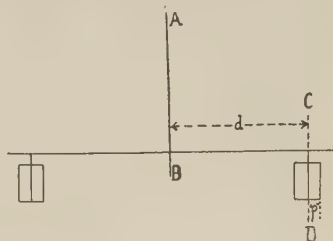


Fig. 11.

Pour augmenter le moment d'inertie, on place deux masses m égales, à des distances d de l'axe de rotation AB (fig. 11). Le moment d'inertie de chacune de ces masses est :

$$m(\rho^2 + d^2),$$

ρ désignant le rayon de giration autour d'un axe CD parallèle à AB et passant par le centre de gravité de chaque masse.

Dans une première expérience, le système oscille avec les masses à une distance d , puis dans une deuxième, avec les masses à une distance d' :

$$I' = 2m(\rho^2 + d^2)$$

$$I'' = 2m(\rho^2 + d'^2).$$

On mesure les périodes d'oscillation d'où l'on déduit C.

m en gr.	d en cm.	d' en cm.	I'	I''	T' en secondes	T'' en secondes	C
1,084	6	25	78,048	1.353	8,69	9,06	7.676
2,097	6	25	150,984	2.621,25	8,71	9,41	7.688

Valeur moyenne de C : 7.682.

Soit l la largeur du cadre, F la pression superficielle en dynes/cm. La force qui s'exerce sur la bandelette est $F l$, et son point d'application est le milieu du flotteur. Soit D la distance de ce point à l'axe de rotation représenté par le fil de torsion. Le moment de la force est F/D .

Il faut tordre le fil de α radians pour maintenir la bandelette dans sa position initiale :

$$F/D = C\alpha \quad \text{d'où :} \quad F = \frac{C\alpha}{D}.$$

Or, on lit sur le plateau circulaire un angle de α degrés, donc :

$$F = \frac{\pi \alpha C}{180 \cdot D}.$$

Pour l'appareil en question $l = 10,2$ cm. et $D = 23,4$ cm. ; par conséquent :

$$F = 0,561\alpha, \text{ en dynes.}$$

Préparation des solutions. — La cuve de verre où l'on fait les expériences est fréquemment lavée au mélange sulfo-chromique. Ses bords rodés sont légèrement paraffinés.

L'eau distillée nécessaire à la préparation des solutions a séjourné dans un barillet de verre, d'où on la soutire par un ajutage placé à la base; de la sorte, les impuretés capillaroactives restent adsorbées à la surface de l'eau et sur les parois du récipient.

Les solutions sont préparées avec des sels purs, dans des flacons lavés au mélange sulfo-chromique.

La cuve est remplie jusqu'aux bords et on règle l'horizontalité de la surface au moyen de trois vis calantes agissant sur le plateau qui porte la cuve. Le liquide est abandonné au repos quelques heures, pour permettre aux impuretés de se rassembler par adsorption à la surface; pendant ce temps, la cuve est protégée des poussières atmosphériques par un dais de cellophane tendue sur un cadre de bois; ce dais est retiré au moment des mesures.

Manœuvre de l'appareil. — Avant chaque expérience, les impuretés sont éliminées par le procédé de GUASTALLA [40] qui donne des surfaces très propres : on talque la surface de l'eau; après avoir rassemblé, par un léger souffle, les impuretés ainsi rendues visibles dans un angle du cadre ou de la cuve, on les aspire au moyen d'un tube effilé relié à une trompe à eau.

La solution du corps à étudier est alors étalée à l'intérieur du corps de pompe. On attend quelques instants que le solvant s'évapore ou se mélange à l'eau de la cuve. Pendant ce temps, le flotteur est immobilisé par une cale, afin d'éviter qu'il ne soit brutalement dévié par la pression développée par le solvant pendant son évaporation. La cale est ensuite écartée. La pression superficielle tend à faire pivoter la bandelette; on la ramène à sa position initiale en tordant le fil. Cette position est repérée au moyen d'un spot et d'un miroir concave M placé sur la tige horizontale L .

Lorsqu'il s'agit d'étudier l'effet sur le film d'une substance capillaroactive introduite dans la solution, la tension superficielle à l'extérieur du cadre est mesurée au tensiomètre de LECOMTE DU NOUY.

II. — Mesure des variations du potentiel de surface.

Après quelques essais, le montage suivant nous a donné satisfaction :

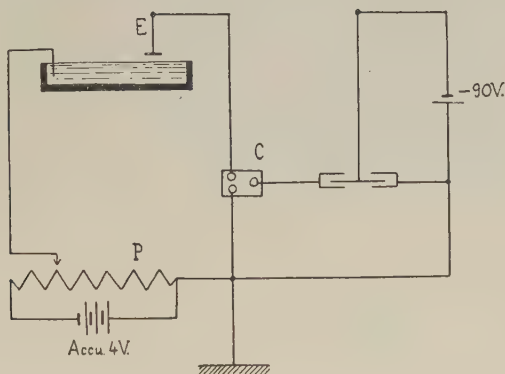


FIG. 12.

L'électrode au polonium E est constituée par un disque d'argent de 4 cm. de diamètre porté, par une tige de laiton, à 1 cm. environ au-dessus de la surface de l'eau ; cette tige est isolée grâce à un anneau d'ambre. L'électrode peut être déplacée pour explorer la surface à étudier. Le disque d'argent a été rendu radioactif, par contact de quelques heures avec une solution renfermant 1.000 U. E. S. de polonium en solution chlorhydrique N/20 ; il est ensuite lavé.

L'électrode doit être disposée au-dessus du liquide 20 minutes au moins avant le début de chaque expérience, sinon le potentiel n'est pas constant ; ces variations proviennent de la vapeur d'eau adsorbée à la surface du métal.

Le circuit d'opposition comprend un accumulateur de 4 volts de grande capacité et un potentiomètre P formé par deux boîtes de résistance, chacune de 41.110 ohms, disposées en série ; comme on n'utilise que les fiches d'une seule des boîtes, la résistance totale est constante et égale à 41.110 ohms. L'une des bornes du potentiomètre est mise à la terre ; l'autre est portée à ± 4 volts selon le signe du potentiel à mesurer.

La liaison du potentiomètre à la cuve se fait simplement par une tige de laiton, des essais préliminaires ayant montré que l'intensité des courants est trop faible pour polariser cette électrode pendant la durée des expériences.

La cuve est isolée du plateau qui la porte, par une plaque de « Plexiglass » de 5 mm. d'épaisseur.

L'électromètre CURIE est utilisé comme appareil de zéro ; sa sensibilité est d'un millivolt par 0,6 mm. de l'échelle placée à 1 m. L'une des paires de quadrants est mise au sol, l'autre peut être, soit mise au sol pour faire le zéro, soit reliée à l'électrode au polonium par l'intermédiaire de la clef C et d'une tige isolée. L'aiguille est portée au potentiel de — 90 volts.

Après nettoyage de la surface aqueuse, on mesure (à une constante près, en raison de l'existence de la différence de potentiel au contact de l'électrode et de l'eau, et de l'état de la surface de l'électrode au polonium selon les modalités de sa préparation) le potentiel E , en choisissant sur le potentiomètre une résistance R du circuit d'opposition, telle que l'électromètre reste au zéro. Après l'étalement du film, on mesure à nouveau la résistance R' (correspondant au potentiel E') nécessaire pour que l'aiguille de l'électromètre ne dévie pas.

La différence $E' - E = \Delta V$ est caractéristique d'une couche monomoléculaire donnée; elle est proportionnelle à $R' - R$. A la fin de l'expérience, on remplace la pile à gaz par un élément WESTON; il faut une résistance R_1 pour compenser la force électromotrice de 1,018 volt. On en déduit :

$$\Delta V = 1,018 \frac{R' - R}{R_1}.$$

III. — *Etalement des couches monomoléculaires.*

Malgré toutes les précautions, il est très difficile de ne pas introduire dans les solutions des corps à partir desquels on forme les films, des traces de matières actives étrangères provenant des solvants utilisés. Aussi faut-il étaler le plus petit volume possible de solution, à la plus grande concentration possible, pour que le rapport impuretés/corps à étudier reste négligeable. Il faut remarquer que l'on ne peut toujours augmenter sans inconvénient le titre des solutions; à partir d'une certaine concentration, les films se forment mal; c'est par exemple le cas de l'acide stéarique et des protéines; probablement, les forces de cohésion intermoléculaires commencent à jouer lorsqu'une certaine concentration est dépassée, et empêchent un étalement correct du film.

La préparation des couches monomoléculaires, par dépôt à la surface de l'eau d'un certain *nombre de gouttes* d'une solution du corps à étudier dans un solvant volatil (benzène, éther de pétrole, etc...), est un procédé peu précis: le solvant s'évapore à l'extrémité du tube capillaire, au fur et à mesure de la formation des gouttes, et la concentration de la solution varie beaucoup; des corrections sont nécessaires [2].

Il est plus simple de *mesurer un volume* donné de solution titrée. Nous avons employé des pipettes de PORAIN pour la numération des hématies; leur volume jusqu'au trait 1 est voisin de 5 ou de 10 mm³; elles ont été étalonnées par pesée, à vide, et après remplissage avec de l'eau distillée jusqu'au trait 101; il suffit de diviser le poids obtenu par 101 et par la densité de l'eau, pour connaître le volume d'une division. Ces pipettes, maintenues par un bout de caoutchouc à l'extrémité d'un tube de verre, sont approchées obliquement de la surface de l'eau; lorsque la pointe a pris contact avec le liquide, on souffle doucement pour chasser la solution à étaler. On peut ainsi mesurer aisément des volumes de 2,5 à 10 mm³.

Pour des volumes plus grands, nous avons utilisé des pipettes de KAHN de 0,4 cm³ divisées en millimètres cubes. Lorsqu'on se sert de ces pipettes, il importe de laisser le liquide s'écouler *très lentement* pour que les mesures de

volume soient correctes. Le dispositif suivant très simple a été employé : un bout de tube de caoutchouc, à demi-vidé, de faible diamètre, est obturé à l'une de ses extrémités par un fragment d'agitateur ; son autre extrémité s'emmanche sur la pipette. Une pince à vis est disposée sur la partie médiane du tube. En desserrant très progressivement cette pince, il se produit une légère dépression à l'intérieur de la pipette, qui est suffisante pour la remplir. En serrant la vis, on peut chasser le liquide aussi lentement qu'on le désire.

SOLVANTS. — Les corps gras ont été dissous dans du benzène redistillé.

La sérumalbumine a été mise en solution dans un mélange d'alcool propylique et d'acétate de sodium suivant les indications de STALLBERG et TEORELL [106]. En effet, l'étalement des protéines n'est long que parce qu'on les emploie en solution aqueuse : la gliadine en solution alcoolique s'étale bien plus facilement, le solvant restant à la surface.

Les avantages du mélange alcool propylique-acétate de sodium sont les suivants :

1° il dissout les albumines et la solution obtenue est limpide et se conserve indéfiniment ;

2° il dissout les lipides et permet ainsi la préparation de films mixtes lipo-protéidiques ;

3° les films peuvent être étalés aussi bien à l'interface de deux liquides non miscibles qu'à l'interface eau-air.

Technique de préparation des solutions de protéines. — Dans une petite fiole lavée au mélange sulfo-chromique, on mesure successivement :

3 cm³ de solution d'acétate de sodium 1,7 M (le sel a préalablement été purifié par recristallisation à l'abri des poussières atmosphériques) ;

6 cm³ d'alcool propylique redistillé. Les deux liquides ne sont pas miscibles.

Puis, en agitant vivement, on introduit 1 cm³ de solution de protéine de concentration comprise entre 1 et 10 mgr. par centimètre cube. Le mélange complet des liquides se produit alors.

Souvent, une légère opalescence apparaît qui se résout au bout de quelques heures en un fin précipité de protéine dénaturée. On filtre sur papier Durieux exempt de matières grasses. Il est alors nécessaire de faire un dosage d'azote dans le filtrat pour connaître la teneur en protéine.

L'alcool isopropylique peut être substitué à son isomère.

Cette technique convient pour la sérumalbumine et la gliadine. L'ovalbumine, qui est facilement dénaturée, donne des solutions instables. Dans ce cas, l'addition d'acide chlorhydrique concentré, jusqu'à virage au rouge du bleu de thymol, est parfois utile.

En solution dans ce mélange, les protéines donnent des films dont les propriétés sont les mêmes que celles des films préparés par les méthodes ordinaires. Les auteurs ont vérifié que ces solutions de protéines ne précipitent pas lorsqu'elles sont soumises à la dialyse ; les propriétés de précipitation par les sels n'ont pas changé. L'essai au nitroprussiate de sodium (qui indiquerait la présence de groupes sulfhydriles libérés par une dénaturation éventuelle) reste négatif. Utilisant la méthode de TISELIUS, STALLBERG et

TEORELL ont constaté que les propriétés électrophorétiques de la protéine, séparée par dialyse de l'alcool propylique et de l'acétate de sodium, sont identiques à celles de la protéine native.

Enfin, aux films étalés à partir de ce mélange, correspondent des courbes pression-surface et potentiel-surface identiques à celles obtenues sur des films étalés en utilisant une solution de la protéine dans du chlorure de sodium 0,15 M. Avec l'ovalbumine des écarts ont été observés.

Pour préparer des solutions mixtes avec des lipides, on dissout ces derniers dans les 6 cm³ d'alcool propylique, avant l'addition de protéine. La présence du lipide ne semble pas agir sur la solubilité de la protéine.

CAUSES D'ERREUR. — Lorsqu'on étudie des réactions photochimiques, des traces infinitésimales d'ions métalliques, introduites accidentellement, peuvent avoir une influence considérable [83] ; cette action doit être rapprochée des effets oligodynamiques observés *in vivo*.

Une cause d'erreur, plus importante pour l'étude qui nous préoccupe, est due à la présence de traces d'acides gras libres qui agiraient fortement sur la gélification des films protéiques [96]. Aussi, en plus d'une purification assez poussée des corps étudiés et d'une propreté méticuleuse des récipients utilisés, un nettoyage parfait de la surface aqueuse est-il indispensable.

CHAPITRE II

ORIGINE, PURIFICATION OU PRÉPARATION DES CORPS UTILISÉS

Acide stéarique. — Il a servi à s'assurer du bon fonctionnement des appareils ; ses courbes pression-surface et potentiel-surface sont représentées par la figure 3.

L'acide stéarique a été purifié par la méthode des précipitations fractionnées de GUEUX [41] : 90 gr. d'acide stéarique du commerce sont dissous à chaud dans 1.500 cm³ d'alcool à 95°. On y ajoute une pincée de noir animal, et l'on porte à l'ébullition une demi-heure, dans un ballon muni d'un réfrigérant ascendant. On filtre la solution encore chaude et on la refroidit, en agitant, sous un filet d'eau froide. On sépare les cristaux sur un filtre et on essore sur une fiole de BÜCHNER ; le produit obtenu fond vers 66-67°. Si l'on concentre le reste de la solution alcoolique par distillation de 500 cm³ d'alcool, on peut recueillir par refroidissement une nouvelle quantité d'acide qui fond à une température plus basse, vers 61°. Le traitement a été répété sur le premier échantillon jusqu'à ce que le point de fusion soit devenu constant et égal à 69° ; c'est ce qui a été obtenu au bout de trois cristallisations successives.

Cholestérol. — Du cholestérol pur Hoffmann-la-Roche a été soumis à deux cristallisations successives dans du chloroforme. Le point de fusion du produit purifié au bloc Maquenne est de 147°.

Digitonoside. — Produit Hoffmann-la-Roche.

Ricinoléate de lithium. — Nous nous sommes servi d'un échantillon très pur préparé suivant la technique de ANDRÉ et VERNIER [7].

Sérumalbumine. — Le sujet de ce travail étant l'étude d'interactions lipoprotéidiques, il était de toute nécessité d'obtenir une albumine complètement exempte de matières grasses.

Or, l'albumine cristallisée en contient toujours, ainsi que GRABAR [39] l'avait remarqué. Un échantillon que nous avons préparé selon SØRENSEN [105] renfermait des proportions appréciables de cholestérol ; le lipide pouvait être déplacé en totalité par le ricinoléate de sodium et le saponoside suivant la technique de TAYEAU [110].

GRABAR préconise la délipidation par la méthode de HEWITT [48]. Mais cette technique, qui consiste en une précipitation des protéines sériques par l'alcool-éther à — 15° et une extraction du précipité au Soxhlet par l'éther pendant 24 heures, est peu pratique, et expose les protéines à l'action énergétique de l'alcool qui risque de les dénaturer. Les mêmes critiques peuvent

s'adresser à la méthode de HARDY et GARDINER [47] utilisée par MACHE-BOEUF [64].

Nous avons combiné la méthode initiale de PIETTRE [86] à la modification d'ADNOT [3]. De la première, nous avons gardé la précipitation acétonique qui ne dénature pas les protéines, et le lavage à l'éther, indispensable pour éliminer toute trace de phosphatides et de stérols insolubles dans l'acétone ; la seconde méthode nous a fourni un moyen précis de précipiter les globulines sans risque de dénaturation.

Voici la marche suivie pour la préparation de sérumalbumine humaine :

10 cm³ de sérum non hémolysé sont refroidis à 0° ; on y ajoute, en mélangeant rapidement, 25 cm³ d'acétone anhydre à — 5° ; dans ces conditions, la température ne monte pas au-dessus de + 4°, après mélange et centrifugation. Le précipité de protéine est séparé par centrifugation de 30 secondes à 2.500 tours. L'acétone est décantée par renversement du tube et le précipité lavé deux fois par 7 cm³ d'acétone à — 5° ; les séparations sont effectuées par centrifugation. Il est nécessaire de bien broyer le précipité sous l'acétone pour éviter les grumeaux.

Les lavages à l'acétone sont suivis de trois lavages avec 10 cm³ d'éther à 0° pour chacun d'eux ; après chaque lavage, on centrifuge 30 secondes à 2.500 tours et on décante l'éther. Après la dernière centrifugation l'éther est éliminé par un courant d'air.

Les protides totaux sont redissous dans 10 cm³ d'eau distillée ; lorsque les grumeaux ont disparu et que la solution est complète, on y ajoute 30 cm³ d'eau distillée, on transvase dans un bécher de 500 cm³, et l'on fait passer pendant 10 minutes un courant d'anhydride carbonique à raison d'une dizaine de bulles par seconde : le pH s'abaisse à 5,5 et la globuline précipite à son point isoélectrique. Immédiatement après, le liquide est rapidement centrifugé pour séparer la globuline.

La solution obtenue constitue la solution-stock de sérumalbumine. On y ajoute 1/10 de son volume de phosphate disodique M/5 : la quantité de sérumalbumine dénaturée qui précipite lors du mélange à l'acétate de sodium et l'alcool propylique semble d'autant plus grande que le pH est plus bas.

Pour préparer le mélange de STALLBERG, on emploie 1 cm³ de cette solution pour 9 cm³ du mélange alcool propylique-acétate de sodium,

Dosage de la sérumalbumine. — Nous nous sommes adressé à la technique de DEMENIER [27] : la minéralisation par l'acide sulfurique en présence d'oxalate de potassium est suivie d'un dosage colorimétrique d'azote, par appréciation de la coloration jaune orangé produite par l'addition d'un réactif de NESSLER spécialement préparé.

Nous avons augmenté la sensibilité de la méthode en faisant les lectures au photomètre JOUAN à cellule photoélectrique fonctionnant comme appareil de zéro ; la coloration jaune de la solution à doser est compensée par l'affusion d'une solution étalon de bichromate de potassium à 1 % dans un volume d'eau déterminé. On se reporte ensuite à une courbe d'étalonnage. La concentration des solutions étudiées varie de 5 à 15 mgr. d'azote %.

Pour calculer la teneur correspondante en protéine, nous avons utilisé le coefficient de 6,55 indiqué par GUILLAUMIN, WAHL et LAURENCIN [42].

CHAPITRE III

COUCHES MONOMOLÉCULAIRES MIXTES CHOLESTÉROL-SÉRUMALBUMINE

Le cholestérol est l'un des constituants des cénapses lipoprotéidiques du sérum ; il est présent dans les membranes des hématies et à la surface des cellules, à côté de molécules protéiques.

Nous avons étudié son interaction avec la sérumalbumine étalée en couche superficielle ; la solution-support de phosphates M/25 était tamponnée à pH 7,2 selon les indications de CLARK [14]. La température à laquelle les expériences ont été faites était de 19-20°.

Après l'étalement des films protéiques, nous avons toujours attendu 10 minutes avant de commencer la compression.

Couche monomoléculaire de cholestérol. — 18 mm³ de solution benzénique de cholestérol au 1/1.000 ont été étalés à l'intérieur du cadre. Les résultats des mesures, faites aussitôt après, sont indiqués dans le tableau suivant et la figure 13.

Aire moléculaire en $\text{\AA}^2$	F en dynes/cm.	ΔV en milliv.
45,2	0	360
43,5	0,5	364
41,7	1,1	370
40	4,5	380
38,2	10	—

Le cholestérol forme un film *liquide* dont l'aire limite est de 40 $\text{\AA}^2$ /mol. (soit 0,62 m²/mgr.). La molécule est ancrée à la surface de l'eau par son groupe — OH en 3 ; le reste de la molécule se projette alors de telle sorte que le plan des quatre cycles est presque perpendiculaire à la surface ; la chaîne saturée en 17 se projette au-dessus du noyau.

Le film est assez instable et s'affaisse dès que l'aire limite est dépassée. ΔV varie de 360 à 380 mV entre 45,2 et 40 $\text{\AA}^2$ /mol. ; le potentiel est mal défini pour une aire plus petite.

Couche monomoléculaire de sérumalbumine. — Les courbes 14 représentent les résultats des mesures rapportées dans le tableau suivant :

Aire en m ² /mgr.	F en dynes/cm.	ΔV en mV
1,42	0	161
1,30	0,3	173
1,19	0,5	187
1,08	1,7	205
0,96	5	226
0,85	10,6	244
0,74	15,1	253
0,62	18,5	256
0,51	21,2	258

Le film de sérumbumine à pH 7,2 forme un *gel* dès que la pression est de l'ordre de 1-2 dynes par centimètre ; cet état persiste jusqu'à l'écrasement du film.

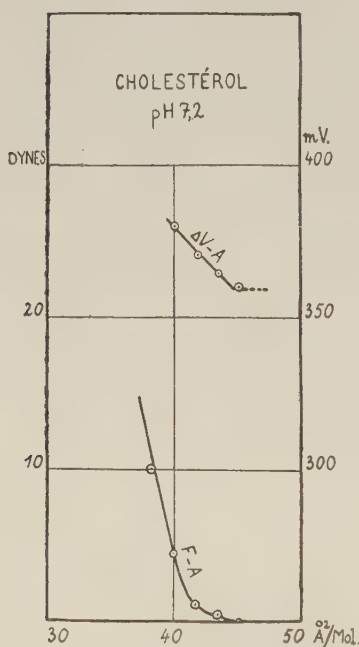


FIG. 13.

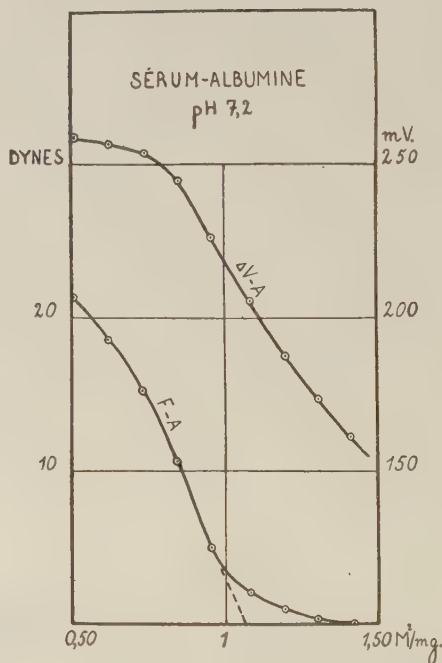


FIG. 14.

Sa courbe $F = f(A)$ présente un point d'inflexion correspondant à une aire critique $a_0 = 1,08$. Cette valeur, identique à celle des films de sérumbumine cristallisée, indique que la méthode de préparation utilisée n'a pas dénaturé la protéine ; en effet, PHILIPPI [85] a montré que toute dénaturation s'accompagne d'une expansion des chaînes polypeptidiques avec grande augmentation de l'aire moléculaire.

Aux fortes pressions, la couche présente de l'hystérésis ; les lectures de pression et de potentiel ont été faites lorsque l'équilibre est atteint, au bout de 1 à 2 minutes.

I. — Films mixtes sérumbumine-cholestérol.

L'hystérésis qu'on observe dans ce cas est déjà nette aux pressions moyennes, et l'on retrouve à un degré bien plus marqué un phénomène signalé par PHILIPPI à propos des films protéiques ; si la couche est soumise avant son complet étalement à une certaine pression, les courbes pression-surface et potentiel-surface ne correspondent plus à celles obtenues à partir de films complètement étalés.

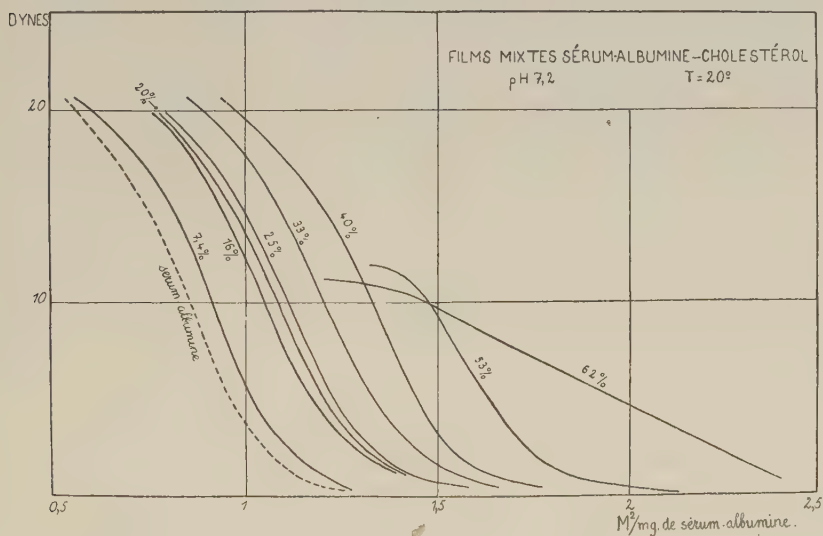


FIG. 15.

Aussi, dans toutes les expériences qui vont suivre, la concentration superficielle doit-elle être telle qu'avant toute compression, la pression soit nulle.

L'introduction du cholestérol dans le film de sérumbumine augmente régulièrement l'aire de la protéine. Considérons en effet la figure 15 représentant les isothermes F-A de mélanges où le cholestérol est en proportions croissantes. Les courbes s'espacent régulièrement et, jusqu'à une teneur en cholestérol de 40 %, elles ont toutes l'allure de celles de la sérumbumine seule. La compressibilité n'a pas changé. A pressions égales, l'augmentation de l'aire avec la concentration en cholestérol est due à la place de plus en plus grande que celui-ci tient dans le film mixte.

Au-dessus de 40 % de cholestérol, la stabilité sous forte pression diminue beaucoup : le film à 53 % ne se maintient pas au-dessus de 12 dynes/cm. et celui à 62 % au-dessus de 11 dynes.

Si nous examinons maintenant les courbes F-A et ΔV -A de chacun des films (rapportées à la surface par milligramme de mélange) (fig. 16 à 23), nous constatons que pour une faible concentration en cholestérol (par exemple 7,4 %), l'isotherme de compression est à peine modifiée ; le potentiel

final ΔV_m est supérieur d'une dizaine de millivolts à celui du film de sérum-albumine pure. Au fur et à mesure que la concentration en lipoïde augmente, le potentiel ΔV_m croît, et évolue vers celui d'un film de cholestérol.

Lorsque l'on réduit suffisamment la surface occupée par les films lipopro-

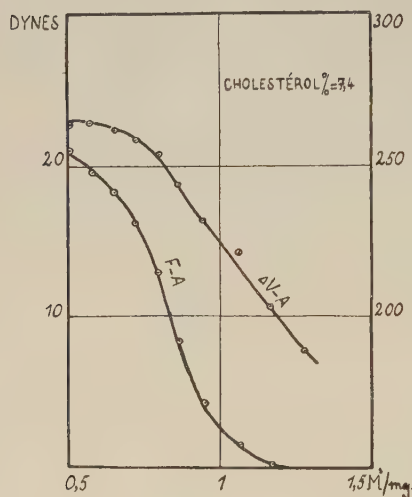


FIG. 16.

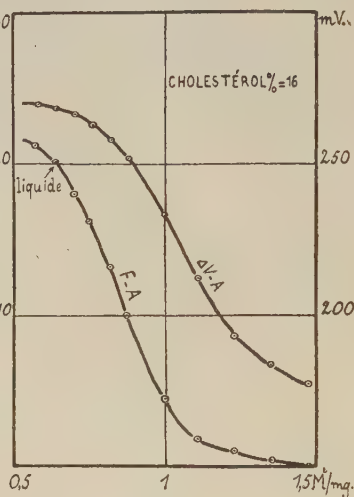


FIG. 17.

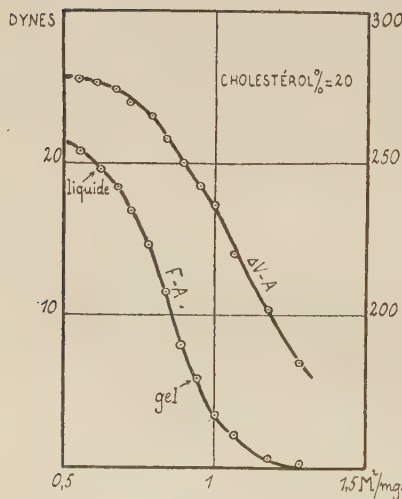


FIG. 18.

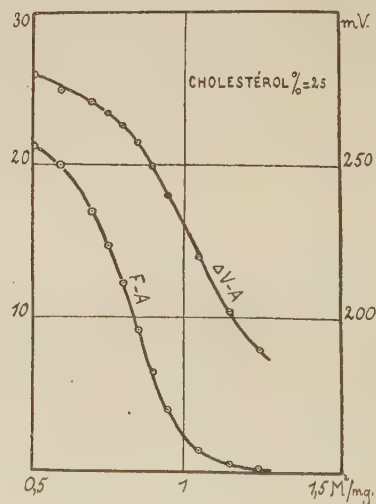


FIG. 19.

téidiques pour que la concentration superficielle du cholestérol soit voisine de $40 \text{ \AA}^2/\text{mol.}$, on observe que le potentiel monte aux environs de 380 mV, valeur du ΔV d'un film de cholestérol à la même concentration ; pour cette aire, la pression monte brusquement et redescend aussitôt : on est à la sur-

face limite du cholestérol et le film s'écrase. Cette brusque montée de la pression se voit plus facilement sur les films renfermant une forte proportion de lipode, par exemple 62 %.

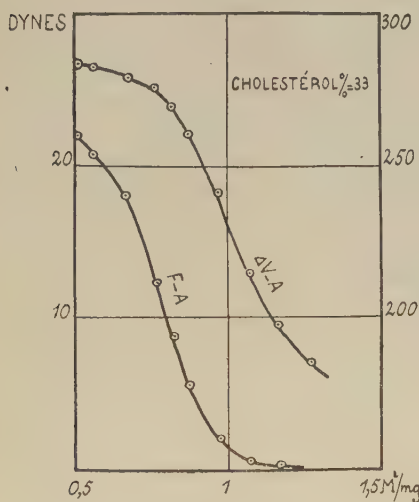


FIG. 20.

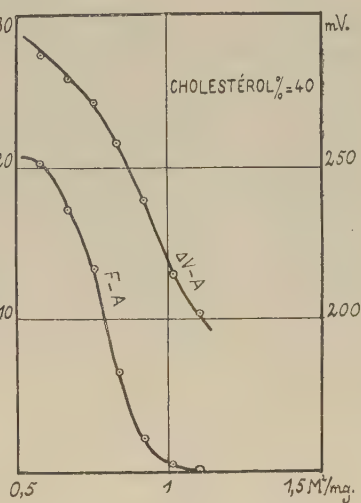


FIG. 21.

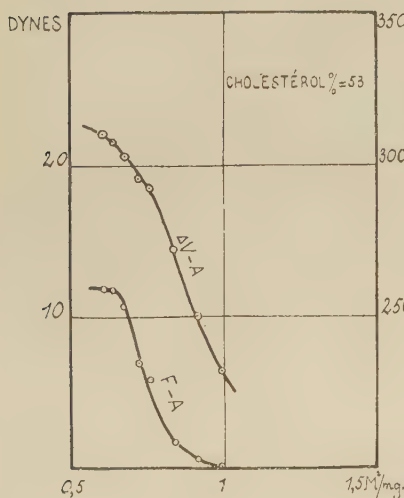


FIG. 22.

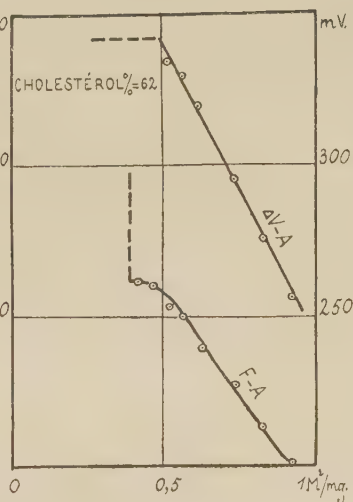


FIG. 23.

Changement d'état des films lipoprotéidiques. — Lorsque la concentration en cholestérol n'est pas trop faible, le film lipoprotéidique, qui est initialement un *gel*, se liquéfie lorsque la pression atteint une certaine valeur.

Le film à 7,4 % de cholestérol est un *gel*, tout comme celui de sérumalbumine.

mine ; les molécules du lipoïde ont été immobilisées dans le réseau superficiel protéique.

Si la proportion de cholestérol augmente (par exemple 16 %), la couche monomoléculaire présente le phénomène de la *liquéfaction* pour une pression de 20 dynes ; en ce point, la concentration superficielle de cholestérol est de $4 \text{ m}^2/\text{mgr.}$

Quand les films renferment plus de 20 % de lipoïde, ils sont constamment liquides : les molécules protéiques sont noyées dans un excès de cholestérol.

Le film mixte à 20 % se présente sous *trois états différents* selon la valeur de la pression : aux basses pressions, il est *liquide* ; l'état de *gel* apparaît pour une pression de 5,9 dynes et une concentration de $0,94 \text{ m}^2/\text{mgr.}$ de mélange ; cet état persiste jusqu'à 20 dynes/cm. et $0,61 \text{ m}^2/\text{mgr.}$; au-dessus le film redevient *liquide*.

Ces changements d'aspect *ne se traduisent par aucun point singulier* des courbes F-A ou ΔV -A ; on ne peut les attribuer qu'aux variations des distances intermoléculaires : aux basses pressions les distances sont suffisamment grandes pour que le film soit fluide ; à pression moyenne, elles ont diminué, le réseau superficiel caractéristique des films protéiques peut se former et le gel apparaît.

La liquéfaction à haute pression est due à l'éjection de la protéine *sous* le film de cholestérol ; l'action du digitonose sur ce film lipoprotéidique le montre particulièrement bien ; elle sera exposée plus loin.

Ce phénomène nous révèle la présence de *liaisons lipoprotéidiques* qui subsistent même après l'éjection de la sérumalbumine : il suffit de diminuer la pression pour voir le gel réapparaître et l'on peut répéter quelques fois la compression et la détente sans que les liaisons soient rompues.

Les molécules de sérumalbumine ne sont pas indépendantes de celles de cholestérol, puisqu'elles ne sont pas dispersées dans la solution. Le film *liquéfié* est un *film double*, formé d'une couche supérieure de molécules de cholestérol, ancrées à des groupements spécifiques de la couche monomoléculaire *sous-jacente* de sérumalbumine.

D'ailleurs, s'il n'y avait aucune liaison entre lipoïde et protéine, la pression devrait s'annuler au point de liquéfaction : en effet, la pression d'un film de cholestérol pur à la même concentration superficielle est égale à zéro. Or, les courbes montent encore de plus d'une dyne avant le palier.

La mesure du potentiel de surface permet aussi de vérifier la présence d'une couche sous-jacente de molécules de sérumalbumine : au point de liquéfaction, la valeur du ΔV n'est pas égale à celle d'un film de cholestérol pur, mais est intermédiaire entre celle-ci et celle du film de protéine seule.

Le film lipoprotéidique à 20 % présente une stabilité particulière si l'on considère à la fois la pression à laquelle on doit le soumettre pour obtenir la liquéfaction (20 dynes) et la concentration en cholestérol relativement grande en ce point ($3 \text{ m}^2/\text{mgr.}$).

II. — Effet de l'introduction de sérumalbumine sous un film de cholestérol.

Par introduction de sérumalbumine à la concentration de 10^{-5} sous un film de cholestérol, on n'observe la pénétration de la couche que si la concentration superficielle du lipide est inférieure à celle qui correspondrait au point de liquéfaction des films lipoprotéidiques.

Le phénomène a été étudié sur une couche monomoléculaire de $4,9 \text{ m}^2/\text{mgr.}$; l'introduction de l'albumine transforme le film *liquide* en *gel*; la pénétration, suivie par les modifications du potentiel de surface, se stabilise au bout d'une demi-heure. Au bout de ce temps, l'abaissement de tension superficielle hors du cadre est de 9 dynes/cm. et le film de cholestérol est pénétré par les molécules protéiques jusqu'à ce que sa pression soit égale à l'abaissement de tension superficielle; son potentiel de surface passe de 101 à 278 mV.

La compression du film permet de savoir dans quelles proportions les deux espèces moléculaires se sont associées :

Cholestérol du film mixte en $\text{m}^2/\text{mgr.}$	F en dynes/cm.
4,5	9
4,1	13,2
3,72	14,6
3,34	16,8
3,14	18

Si nous représentons sur un même graphique (fig. 24), où les surfaces par milligramme de cholestérol sont portées en abscisses, d'une part les isothermes de compression des films mixtes cholestérol-sérumalbumine (en pointillé sur la figure), d'autre part la courbe F-A du film de pénétration que nous venons de former, nous constatons que cette dernière coïncide avec la courbe pression surface du film à 20 % de lipide.

Ce film de pénétration présente le phénomène de la *liquéfaction* pour une surface de $3,14 \text{ m}^2/\text{mgr.}$ et une pression de 18 dynes; ces deux valeurs sont voisines des valeurs correspondantes du film mixte à 20 % de cholestérol.

C'est la même courbe de compression que l'on obtient aussi en introduisant moitié moins de protéine ($5 \cdot 10^{-6}$) : les proportions dans lesquelles sérumalbumine et cholestérol s'unissent en film mixte ne semblent pas dépendre des quantités mises en présence.

Si la concentration superficielle du cholestérol avant l'introduction de protéine est supérieure à celle correspondant au point de liquéfaction, on n'observe pas de pénétration; l'état du film n'est pas modifié mais le potentiel augmente indiquant la formation d'un film d'adsorption.

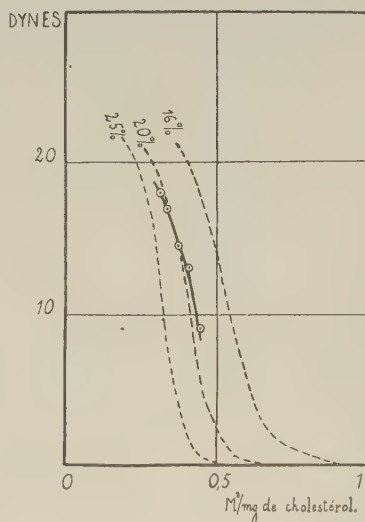


FIG. 24.

A pH 7,2, il existe donc une association cholestérol-sérumalbumine remarquable, dans le rapport pondéral de 1/4. L'union du stérol à la protéine se fait essentiellement par interaction des groupes polaires; les forces de VAN DER WAALS entre parties hydrophobes des molécules ne jouent vraisemblablement qu'un rôle faible ou nul.

III. — Action du digitonoside sur les couches monomoléculaires de protéine et les films mixtes cholestérol-sérumalbumine.

Le cholestérol forme en solution avec le digitonoside un complexe équimoléculaire insoluble cristallisé, utilisé pour son dosage.

Injecté à la concentration de $1,6 \cdot 10^{-5}$ dans la solution tampon de phosphates M/25 à pH 7,2 sous un film de cholestérol à $82 \text{ Å}^2/\text{mol.}$ ($F=0$; $\Delta V=230 \text{ mV}$), le digitonoside transforme le film lipodique *liquide* en film *solide*; la pression monte à $25,7 \text{ dynes/cm.}$ et ΔV à 455 mV . Hors du cadre, le tensiomètre accuse une chute de tension superficielle de $12,8 \text{ dynes}$ et $\Delta V=320 \text{ mV}$.

C'est un exemple typique de pénétration d'une couche monomoléculaire.

L'association cholestérol-digitonoside se fait par l'adhésion mutuelle des parties cycliques des molécules.

La pénétration se produit pour des concentrations bien plus faibles, par exemple pour 10^{-6} .

La compression du film à $80 \text{ Å}^2/\text{mol.}$ l'amène à sa surface limite; la surface occupée par le digitonoside dans le film de pénétration est donc égale à celle occupée par le cholestérol. Au voisinage de $80 \text{ Å}^2/\text{mol.}$, $F=41,4 \text{ dynes}$ et $\Delta V=465 \text{ mV}$; au delà le film s'écroule; des rides, d'abord fugaces, apparaissent au bord du piston; des teintes d'interférence, brunes, les accompagnent.

Action du digitonoside sur les films de serumalbumine. — Le film étudié est soumis à une pression de $6,4 \text{ dynes/cm.}$; $\Delta V=249 \text{ mV}$. L'introduction de digitonoside à la concentration de $1,6 \cdot 10^{-6}$ fait monter le potentiel à 267 mV ; la pression est à peine modifiée: $7,6 \text{ dynes}$.

Si la concentration est dix fois plus forte, le film passe de l'état de gel à celui liquide; la pression atteint $13,2 \text{ dynes}$ et $\Delta V=286 \text{ mV}$. Au même moment, hors du cadre, les modifications sont $\Delta \gamma=12 \text{ dynes}$; $\Delta V=304 \text{ mV}$.

La pénétration du film protéique est donc faible; un film mixte glucido-protéique en résulte; son état ne change pas par compression.

Action du digitonoside sur le film mixte serumalbumine-cholestérol (20 %). — Le digitonoside pénètre le film mixte, sauf lorsqu'il est liquide à haute pression; son action paraît porter surtout sur les molécules de cholestérol et il se forme un complexe triple glucidolipoprotéidique où les trois espèces moléculaires seraient unies par des forces de VAN DER WAALS.

A) *Introduction du digitonoside sous le film liquide à basse pression.* — L'état du film ne change pas, mais une compression ultérieure ne produit plus de gélification.

Les changements de pression superficielle, de tension superficielle et de potentiel de surface sont indiqués dans le tableau suivant :

Pression initiale du film : 2,8 dynes.
 $\Delta V = 235$ mV.

Concentration du digitonoside			
$1,6 \cdot 10^{-6}$		$1,6 \cdot 10^{-5}$	
Film	Modifications hors du cadre	Film	Modifications hors du cadre
$F = 7$ dynes $\Delta V = 308$ mV	$\Delta\gamma = 2$ dynes $\Delta V = 226$ mV	$F = 14,8$ dynes $\Delta V = 336$ mV	$\Delta\gamma = 12$ dynes $\Delta V = 313$ mV

B) *Introduction du digitonoside sous le film à l'état de gel.* — L'état du film n'est pas modifié et, comme précédemment, on observe une augmentation de la pression superficielle et du potentiel de surface, ce qui indique une pénétration du film :

Pression initiale du film : 11,5 dynes.
 $\Delta V = 266$ mV.

Concentration du digitonoside			
$1,6 \cdot 10^{-6}$		$1,6 \cdot 10^{-5}$	
Film	Hors du cadre	Film	Hors du cadre
$F = 13,8$ dynes $\Delta V = 322$ mV	$\Delta\gamma = 2$ dynes	$F = 19,8$ dynes $\Delta V = 336$ mV	$\Delta\gamma = 12,5$ dynes $\Delta V = 304$ mV

C) *Injection sous un film liquide à haute pression.* — En quelques secondes, le film change d'aspect : un *gel* très consistant apparaît. La pression superficielle n'est pas modifiée, même pour des concentrations de $1,6 \cdot 10^{-5}$; le potentiel varie :

Pression initiale du film : 21,8 dynes.
 $\Delta V = 289$ mV.

Après l'introduction de $1,6 \cdot 10^{-5}$ de digitonoside :

$F = 21,5$ dynes.
 $\Delta V = 390$ mV.

A l'extérieur du cadre :

$\Delta\gamma = 12,5$ dynes.
 $\Delta V = 340$ mV.

Cette modification de 101 mV du potentiel que n'accompagne aucune variation de pression, traduit un phénomène d'adsorption intense.

La sérumalbumine, couche inférieure du film double cholestérolprotéine, forme ici un écran empêchant les molécules de digitonoside d'exercer leur effet ordinaire sur le cholestérol ; celui-ci est « dissimulé » à son réactif.

D) *Détente du film mixte à 20 % de cholestérol sur une solution de digitonoside.* — La figure 25 représente les courbes de détente de la couche

mixte cholestérol-sérumalbumine sur une solution tamponnée à pH 7.2, et sur le même milieu renfermant 10^{-6} de digitonoside. Les films ont d'abord été comprimés à $0,38 \text{ m}^2/\text{mgr.}$, c'est-à-dire au delà du point de liquéfaction ; $\Delta V = 280$ à 285 mV ; la détente a été effectuée lentement.

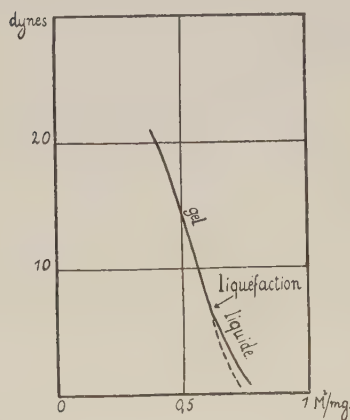


FIG. 25.

Les courbes sont très voisines jusqu'à la surface de $0,62 \text{ m}^2/\text{mgr.}$ Sur la solution de digitonoside, le film présente l'état d'un gel ; pour une surface égale ou supérieure à $0,62 \text{ m}^2/\text{mgr.}$, il devient liquide. A partir de cette surface, les deux courbes s'écartent : à surfaces égales, la pression du film étalé sur la solution renfermant du digitonoside est plus grande que celle du film étalé sur le milieu qui n'en contient pas.

La détente a permis aux molécules protéiques qui constituaient la couche inférieure du film double de reprendre leur place entre celles de cholestérol auxquelles elles sont liées ; le cholestérol a été « démasqué », d'où la pénétration du film et l'aug-

mentation de pression corrélative. Cette surface de $0,62 \text{ m}^2/\text{mgr.}$ est précisément celle qui correspond au point de liquéfaction du film lipoprotéidique.

Action du digitonoside sur des films renfermant une proportion plus forte de cholestérol que le film à 20 %. — A) *A basse pression* : un film d'un mélange renfermant 31 % de cholestérol est comprimé à 7,3 dynes ; $\Delta V = 267 \text{ mV}$.

L'injection de $1,6 \cdot 10^{-6}$ de digitonoside fait monter la pression à 15,9 dynes ; $\Delta V = 364 \text{ mV}$.

Il s'agit donc d'une forte pénétration.

B) *A haute pression* : $F = 19,6$ dynes ; $\Delta V = 313 \text{ mV}$.

Le phénomène observé est une simple adsorption ; en effet, après l'introduction dans la solution de la même quantité de digitonoside, la pression est égale à 20,5 dynes et $\Delta V = 345 \text{ mV}$.

Cette différence d'action indique que, malgré l'absence de changement d'état lors de la compression de ce film mixte (il reste liquide quelle que soit la pression qu'on lui applique), il se forme aussi un film *double* aux hautes pressions.

CHAPITRE IV

ASSOCIATION ACIDE RICINOLÉIQUE-SÉRUMALBUMINE

Le type le plus simple d'une cénapse lipoprotéidique est celui qui résulte de l'union d'un acide gras à une protéine. L'acide ricinoléique est, parmi les acides de la série aliphatique, l'un de ceux qui possèdent les propriétés biologiques les plus remarquables. Ses propriétés drastiques sont connues depuis longtemps. M. VALETTE [41] a étudié son action irritante sur les muqueuses, CAVIER [41] son pouvoir hémolytique. MM. GUILLOT et ONG SIAN GWAN [44] ont signalé son action inhibitrice sur l'intestin isolé du cobaye.

Sur les toxines bactériennes, cet acide agit en annulant leur toxicité et les transforme en *cryptotoxines* qui conservent le pouvoir antigénique [55].

La grande activité capillaire de l'acide ricinoléique nous a conduit à examiner son action sur les couches monomoléculaires de protéine. Nous avons étudié le comportement d'un film de sérumalbumine sur une solution de ricinoléate de lithium, et celui de films mixtes acide ricinoléique-sérumalbumine.

I. — Effet de l'introduction du ricinoléate de lithium sous une couche superficielle de sérumalbumine.

Un film de sérumalbumine, de pression 9 dynes/cm. et $\Delta V = 242$ mV, est étalé sur une solution, tamponnée au pH 7,4, de phosphates M/25; la température est de 21°.

Ce film se présente sous l'aspect d'un gel. Au moyen d'une pipette, nous introduisons dans la solution une quantité de ricinoléate de lithium, telle que sa concentration soit de 10^{-6} . Le liquide sous-jacent est bien mélangé puis abandonné au repos.

Très rapidement, en 3 à 4 minutes, le gel disparaît, une couche d'adsorption liquide remplace le film qui se disperse dans la solution. En même temps, la pression tombe; les mesures faites une demi-heure à trois quarts d'heure après donnent les chiffres suivants :

$$\begin{aligned}\text{Pression : } & \mathbf{2,2 \text{ dynes.}} \\ \Delta V & = 234 \text{ mV;} \end{aligned}$$

le potentiel n'est donc affecté que légèrement.

Or, dans la même cuve, l'abaissement $\Delta\gamma$ de tension superficielle d'une solution à 10^{-6} de ricinoléate Li est de 3 dynes, son ΔV est égal à 97 mV; on voit que $\Delta\gamma$ est bien inférieur à la pression initiale du film de sérumalbumine, qui est de 9 dynes. Le phénomène de dispersion du film n'est donc

pas un simple déplacement d'une couche monomoléculaire par les molécules d'une substance de plus grande activité capillaire.

Il s'est formé un complexe acide ricinolique-sérumalbumine trop soluble pour former un film stable et le complexe est passé en solution. Cependant, il est capillaroactif : en effet, hors du cadre, l'abaissement de la tension superficielle après la dispersion est non pas de 3 dynes, mais de 9 dynes et $\Delta V = 238$ mV, très voisin de la variation du potentiel à l'intérieur du cadre.

La chute de tension superficielle à l'intérieur du cadre est donc de $9 + 2,2 = 11,2$ dynes ; cet abaissement est supérieur à la fois à celui donné par une solution de ricinoléate et à la pression initiale du film de sérum-albumine.

Après sa dispersion, le complexe est venu s'adsorber à l'interface, et cette adsorption s'est produite surtout à l'endroit où les deux constituants se trouvaient présents, c'est-à-dire à l'intérieur du cadre, d'où la légère différence de tension superficielle de 2,2 dynes.

Pour nous assurer que ces chiffres ne sont pas dus à la présence hors du cadre de molécules du film qui se seraient échappées si la bandelette flottante n'assurait pas une étanchéité parfaite, nous avons effectué des mesures à l'intérieur du cadre et en arrière du piston ; la construction de l'appareil est telle que cette surface est limitée de façon absolument hermétique par les éléments du cadre. Les dimensions du tensiomètre de du NOUY ne nous permettant pas d'y mesurer la tension superficielle, nous avons exploré la surface au moyen de l'électrode au polonium ; le ΔV observé est égal à 221 mV, peu différent par conséquent de celui trouvé à l'intérieur du cadre. Ceci montre bien que les légères différences observées sont dues à la difficulté d'homogénéiser parfaitement le liquide sous le film.

Le tableau suivant résume l'ensemble des résultats :

Solution à 10^{-6} de ricinoléate Li	Effet de l'introduction de 10^{-6} de ricinoléate Li sous un film de sérumalbumine		
	Derrière le piston	A l'intérieur du cadre	Hors du cadre
$\Delta\gamma = 3$ dynes	—	11,2 dynes	9 dynes
$\Delta V = 97$ mV	221 mV	234 mV	238 mV

Quelles sont les forces qui lient l'acide gras à la protéine ?

L'abaissement de tension superficielle, dont le complexe lipoprotéidique est la cause, supérieur à l'abaissement produit par chacun des deux constituants séparément, permet de rapprocher cette association moléculaire de celles que l'on observe dans les films de pénétration, d'où l'hypothèse de liaison des deux espèces chimiques par des forces de VAN DER WAALS. La différence que l'on peut établir entre le complexe lipoprotéidique et les films de pénétration réside dans la grande *solubilité* du complexe qui ne peut former un film stable. Cette solubilité, plus grande que celle du film protéique, est un argument en faveur de l'hypothèse d'une solvation mutuelle des chaînes hydrocarbonées du lipide et de la protéine.

Nous signalerons l'analogie du phénomène de dispersion avec le phénomène d'adsorption de LECOMTE DU NOUY [56].

Application de ces phénomènes à quelques processus de cytolyse. — Dans certains phénomènes biologiques, les différents types d'interaction envisagés pourraient jouer simultanément, par exemple au cours de la cytolyse : le film mixte cholestérol-sérumalbumine constitue un modèle schématique d'une membrane cellulaire lipoprotéidique. Les agents qui pénètrent les films de cholestérol provoquent une augmentation de la surface de la membrane, une déformation qui amène la lyse de la cellule ; c'est, en particulier, ce qui se passe lors de l'hémolyse par le digitonoside.

Les substances qui présentent une affinité pour les unités protéiques supérieure aux affinités de ces unités entre elles, brisent les associations des molécules des films de protéine, dispersent ces films et dissolvent les membranes des cellules. C'est un deuxième mode de destruction cellulaire ; les sels de l'acide ricinoléique et, en général, tous les savons agiraient ainsi. La lyse des pneumocoques par la bile (phénomène de NEUFELD) s'effectuerait peut-être par un processus de ce genre, les acides biliaires dispersant les protéines des corps bactériens.

II. — Films mixtes ricinoléate de lithium-sérumalbumine.

Nous venons de rapprocher des complexes de pénétration l'association acide ricinoléique-sérumalbumine ; nous pouvons penser à l'existence d'un rapport stœchiométrique entre lipide et protéine, et chercher sa valeur par l'étude des films mixtes lipoprotéidiques : si ce rapport existe, la totalité de l'albumine des films doit passer en solution, dès qu'une certaine concentration en acide ricinoléique est atteinte dans les couches monomoléculaires mixtes. Si le phénomène est qualitativement celui que nous venons de supposer, la méthode s'est malheureusement révélée trop peu sensible pour donner des renseignements précis, en raison de l'énorme hystérésis qui accompagne la dissolution de l'association lipoprotéidique.

TECHNIQUE. — L'acide ricinoléique, sous forme de son sel de lithium, est ajouté, en proportions croissantes, à la serumalbumine en solution dans le mélange alcool propylique-acétate de sodium.

La solution-suppôt est, ici encore, une solution tamponnée au pH 7,4 de phosphates M/25.

A ce pH, l'acide ricinoléique ne donne pas de films stables, aussi a-t-il été impossible de mesurer sa pression superficielle ou les variations de potentiel. Le mémoire de SAMESHIMA et SASAKI [95] indique une valeur de a_0 égale à $91 \text{ \AA}^2/\text{mol.}$ pour l'acide ricinoléique étalé sur ClH 0,05 N.

Les courbes F-A et ΔV -A sont tracées en portant en abscisses la surface par milligramme de serumalbumine.

RÉSULTATS. — Ils sont différents selon que l'on opère rapidement et à température assez basse, ou bien à température plus haute et en attendant, après chaque compression, un certain temps avant de faire les mesures.

A. La température étant de 13° , si on lit les pressions et les potentiels au bout de l'intervalle de temps habituel pour les films protéiques (c'est-à-dire environ 2 minutes après la compression) on trouve que les courbes F-A et

ΔV -A des films mixtes sont toutes superposables à celles des films de sérum-albumine seule, malgré la présence de quantités importantes (52 % par exemple) d'acide ricinoléique. Les figures 26 à 29 le montrent : tout se passe comme s'il n'y avait pas d'acide gras dans les mélanges étalés.

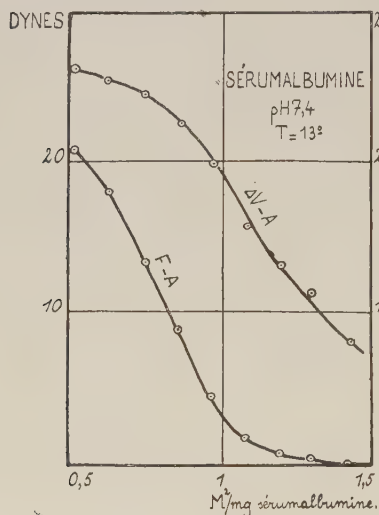


FIG. 26.

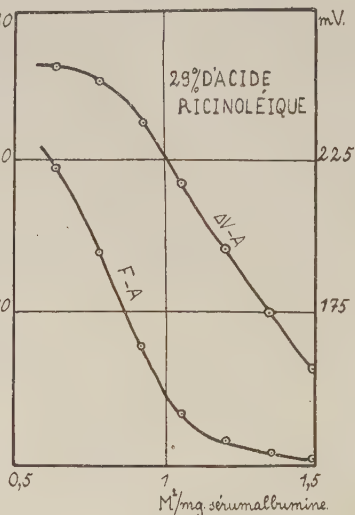


FIG. 27.

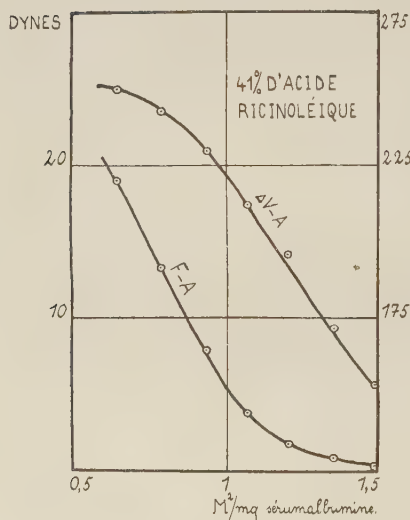


FIG. 28.

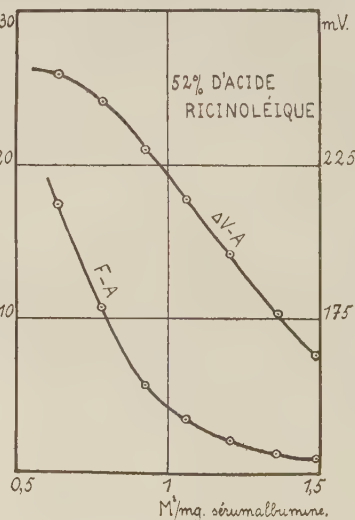


FIG. 29.

B. Si la température est plus élevée (21°) et si l'on attend après chaque compression, qu'un certain équilibre s'établisse, on assiste à la disparition de la sérumalbumine du film sous forme de complexe lipoprotéidique.

La figure 30 représente les résultats obtenus en laissant un intervalle d'au moins 5 minutes entre la compression et les mesures. Elle montre que l'affaissement des courbes pression-surface est de plus en plus important au fur et à mesure que la proportion d'acide ricinoléique augmente dans les mélanges.

La pression superficielle des films mixtes est bien due à l'excès de sérum-albumine qui se trouve à l'interface : en effet, pour un mélange donné, à chaque point de la courbe F.A. correspond une valeur de ΔV égale à celle que l'on observe sur un film de sérumalbumine pure, à la même pression superficielle.

C'est la disparition progressive de la protéine qui suggère qu'un rapport stœchiométrique pourrait exister dans la phase dispersée.

Remarquons que, même si l'on augmente notablement (62 % par exemple) la proportion d'acide ricinoléique, on n'arrive pas à obtenir une pression nulle pour une faible surface du film : il subsiste une pression résiduelle d'environ 2 dynes ; c'est l'ordre de grandeur de la différence entre les tensions superficielles à l'intérieur et à l'extérieur du cadre, après injection de ricinoléate de lithium sous le film protéique lors des expériences précédemment décrites. Ici encore, il s'agit d'un équilibre long à atteindre et il faut attendre une demi-heure pour que la pression s'annule complètement.

Nous avons vu que le complexe acide ricinoléique-sérumalbumine est soluble et doué d'activité capillaire ; aussi, dans ces expériences de compression de films mixtes, devons-nous retrouver une partie du complexe adsorbée à la surface aqueuse, hors du cadre. En effet, après compression du film renfermant 52 % d'acide ricinoléique, la tension superficielle hors du cadre a baissé de 2 dynes et, ce qui est plus caractéristique, $\Delta V = 225$ mV, valeur très proche de celle observée précédemment après la dispersion du film de sérumalbumine par le ricinoléate de lithium.

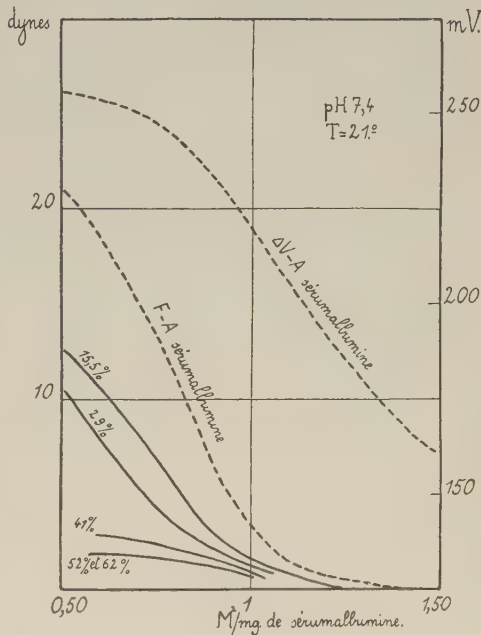


FIG. 30.

CONCLUSIONS

Au cours de ce travail, entrepris dans le but de réaliser des associations lipoprotéidiques comparables aux cénapses naturelles, nous avons formé des couches monomoléculaires complexes, à base de sérumalbumine. Leur étude nous permet de décrire trois types d'association et les résultats obtenus confirment ceux de RIDEAL, relatifs à des films formés à partir de gliadine.

PREMIER TYPE : association cholestérol-sérumalbumine. — Des films mixtes renfermant des proportions croissantes de cholestérol ont été examinés. A pH 7,2, une association de stabilité remarquable existe dans le rapport d'une partie de cholestérol pour quatre de sérumalbumine, soit, si l'on admet la valeur de 70.200 pour le poids moléculaire de la sérumalbumine, dans le rapport de 45 molécules de cholestérol pour une de protéine. Le film mixte à 20 % de cholestérol se présente *sous trois états différents* selon la valeur de la pression superficielle : *liquide* à basse pression ; *gel* pour une pression comprise entre 5,9 dynes et 20 dynes/cm. ; *liquide* si la pression est supérieure à 20 dynes.

Le film liquéfié à haute pression est un film *double* formé d'une couche de molécules de cholestérol ancrées à des groupements spécifiques de la couche monomoléculaire sous-jacente de sérumalbumine.

Les propriétés particulières de ce film mixte nous permettent de conclure que l'union du stérol à l'albumine se fait essentiellement par interaction des groupes polaires et d'attribuer aux forces de cohésion de VAN DER WAALS entre parties hydrophobes des molécules un rôle faible ou nul.

DEUXIÈME TYPE : action du digitonoside sur les couches superficielles de protéine et les films mixtes cholestérol-sérumalbumine. — Le digitonoside pénètre légèrement les films de sérumalbumine pour donner un complexe glucido-protéidique.

La pénétration par le digitonoside des films mixtes cholestérol-sérumalbumine est importante, sauf aux pressions où le film est *liquide*. L'action du digitonoside paraît porter surtout sur les molécules de cholestérol et il se formerait un complexe triple glucido-lipo-protéidique où les trois espèces moléculaires seraient unies à la fois par interaction des groupes polaires et par des forces de VAN DER WAALS. Cette pénétration et l'augmentation concomitante de l'aire fournissent une explication du pouvoir hémolytique du digitonoside.

Si le film est comprimé au-dessus de son point de liquéfaction, la sérumalbumine, couche inférieure du film double cholestérol-protéine, forme un écran empêchant les molécules de digitonoside d'exercer leur effet ordinaire sur le cholestérol. Aussi, dans ce cas, constate-t-on qu'il ne se produit pas

de pénétration, mais que le digitonoside est très fortement adsorbé sur le film.

TROISIÈME TYPE : *association acide ricinoléique-sérumalbumine*. — Le ricinoléate de lithium disperse les films de protéine dans la solution sous-jacente sous forme d'un complexe trop soluble pour former un film stable, mais cependant tensioactif. Ce complexe est à rapprocher des cénapses lipoprotéidiques étudiés par MACHEBŒUF.

Les propriétés de cette association et celles des films mixtes acide ricinoléique-sérumalbumine nous suggèrent l'hypothèse de l'union des constituants par des forces de VAN DER WAALS, ainsi que celle de l'existence d'un rapport stœchiométrique entre acide gras et protéine dans la phase dispersée, mais ce rapport n'a pu être déterminé.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] ADAM (N. K.). — Molecular forces, orientation and surface films dans l'ouvrage *Perspectives in Biochemistry*, Cambridge, 1937. University Press.
- [2] ADAM (N. K.) et JESSOP (G.). — The structure of thin films. Expanded films. *Proc. Roy. Soc., A*, 1926, **112**, 362.
- [3] ADNOT (A.). — Contribution à l'étude des protides du sérum. *Thèse Doct. Méd.*, Strasbourg, 1931.
- [4] ALEXANDER (A. E.). — Reaction kinetics in films ; active agents in the aqueous halogenation of long-chain phenols. *J. Chem. Soc.*, 1938, 729.
- [5] ALEXANDER (A. E.) et RIDEAL (E. K.). — Reaction kinetics in films. The hydrolysis of long-chain esters. *Proc. Roy. Soc., A*, 1937, **163**, 70.
- [6] ALEXANDER (A. E.) et TEORELL (T.). — A study of films at the liquid-liquid interface. *Trans. Faraday Soc.*, 1939, **35**, 727.
- [7] ANDRÉ (E.) et VERNIER (Ch.). — Sur quelques propriétés physiques de l'acide ricinoléique pur. *Ann. Comb. liq.*, 1931, **6**, 1101.
- [8] BOUASSE (H.). — Pendule spiral, diapason. Paris, 1920, Delagrave.
- [9] BOUHET (Ch.). — Polarisation elliptique par réflexion à la surface des liquides. Application à l'étude des couches monomoléculaires superficielles. *Ann. Physique*, 1934, Xe série, **15**, 5.
- [10] CARY (A.) et RIDEAL (E. K.). — Behaviour of fats on the surface of water. *Proc. Roy. Soc., A*, 1925, **109**, 301.
- [11] CAVIER (R.). — Le pouvoir hémolytique des savons alcalins. Influence de la nature de l'acide gras. *Bull. Soc. Ch. biol.*, 1937, **19**, 1663.
- [12] CHARONNAT (R.). — Solubilité du cholestérol dans les liquides aqueux et en particulier dans le sérum. *J. Pharm. Chim.*, 1935, **22**, 574.
- [13] CHARONNAT (R.). — Substances variées pouvant libérer le cholestérol de son support protéique. *J. Pharm. Chim.*, 1936, **23**, 307.
- [14] CLARK (W. M.). — Determination of hydrogen ions. London, 1925.
- [15] CLOWES (G. H. A.), DAVIS (W. W.) et KRAHL (M. E.). — The possible significance of interactions between polycyclic hydrocarbons and sterols in surface films. *American Journal of Cancer*, 1939, **37**, 453.
- [16] COCKBAIN (E. G.) et SCHULMAN (J. H.). — Molecular interactions in monolayers. Association between amines and organic acids. *Trans. Faraday Soc.*, 1939, **35**, 716.
- [17] COPPO (M.) et MAGRASSI (F.). — Studi sui complessi lipoproteici del siero : loro modificazioni nello « stato di infezione » (infezioni da ultravirus). *Annali d'Igiene*, 1937, **47**, 541.
- [18] COPPO (M.) et MARFORI (L.). — Studi sui complessi lipoproteici del siero. Modificazioni di essi alla temperatura cosiddetta critica (56°). *Annali d'Igiene*, 1937, **47**, 426.
- [19] DELAGE (B.). — Contribution à l'étude de la stabilité des liaisons lipoprotéiques dans le sérum sanguin. *Bull. Soc. Ch. biol.*, 1935, **17**, 927.

- [20] DELAGE (B.). — Extractibilité des lipides sériques par l'éther en présence d'alcool à froid en relation avec l'état de santé ou de maladie. *Bull. Soc. Ch. biol.*, 1935, **17**, 938.
- [21] DELAGE (B.). — Liaisons lipides-protéides et vieillissement du sérum sanguin. *Bull. Soc. Ch. biol.*, 1936, **18**, 1304.
- [22] DELAGE (B.). — Extractibilité des lipides sériques par l'éther en fonction du pH. *Bull. Soc. Ch. biol.*, 1936, **18**, 1600.
- [23] DELAGE (B.). — Contribution à l'étude des liaisons lipides-protéides dans le sérum sanguin. Analyse des facteurs physicochimiques de l'extractibilité des lipides sériques en présence de différentes substances. *Bull. Soc. Ch. biol.*, 1936, **18**, 1603.
- [24] DELAGE (B.). — Recherches sur le sérum sanguin chez la génisse au cours de la maladie vaccinale. *Bull. Soc. Ch. biol.*, 1937, **19**, 1407.
- [25] DELAGE (B.). — Extractibilité comparée des lipides des globulines et des albumines du sérum sanguin. *Bull. Soc. Ch. biol.*, 1938, **20**, 892.
- [26] DELAGE (B.). — Le système lipoprotéidique du sérum au cours de la néphrite expérimentale au nitrate d'urane. *C. R. Soc. Biol.*, 1938, **128**, 735.
- [27] DEMENIER (G.). — Contribution à l'étude des protéines du sérum sanguin. *Thèse Doct. Pharm.*, Bordeaux, 1934.
- [28] DERVICHIAN (D. G.). — Recherches sur les couches monomoléculaires. *Thèse Doct. Sciences*, Paris, 1936.
- [29] DERVICHIAN (D. G.). — Structure des protéines. *C. R.*, 1940, **211**, 792.
- [30] DERVICHIAN (D. G.). — Interprétation de la dénaturation et des propriétés physicochimiques des protéines. *C. R.*, 1941, **212**, 86.
- [31] DERVICHIAN (D. G.). — Micelles et macromolécules (Emulsions, savons et protéines) *J. Chim. Phys.*, 1941, **38**, 59.
- [32] DOGNON (A.) et GUGEROT (L.). — Enregistrement des tensions de surface. Evolution des surfaces et signification du phénomène de ou Noux. *Bull. Soc. Ch. biol.*, 1941, **23**, 230.
- [33] DRUDE (P.). — Ueber die Reflexion und Brechung ebener Lichtwellen beim Durchgang durch eine mit Oberflächenschichten behaftete planparallele Platte. *Ann. der Physik*, 1891, **43**, 426 et *Précis d'optique* (trad. française), tome II, Paris, 1912, Gauthier-Villars.
- [34] FOSBINDER (R. J.) et RIDEAL (E. K.). — Reaction kinetics in films. The hydrolysis of γ -stearolactone. *Proc. Roy. Soc., A*, 1933, **143**, 61.
- [35] GEE (G.) et RIDEAL (E. K.). — Studies in the autoxidation of monolayers. The mechanism of autoxidation of maleic anhydride β -eleostearine. *J. Chem. Physics*, 1937, **5**, 794.
- [36] GEE (G.) et RIDEAL (E. K.). — Catalysed polymerisation in monolayers of drying oils. *J. Chem. Soc.*, 1937, 772.
- [37] GORTER (E.) et GRENDL (F.). — On the spreading of proteins. *Trans. Faraday Soc.*, 1926, **22**, 477.
- [38] GORTER (E.) et SEEDER (W. A.). — An apparatus for pressure measurements of spreading substances. *J. gen. Physiol.*, 1935, **18**, 427.
- [39] GRABAR (P.). — Préparation de sérumalbumine sèche, pure, cristallisable. *C. R. Soc. Biol.*, 1933, **112**, 1094.
- [40] GUASTALLA (J.). — Solutions superficielles de l'acide oléique. Mesure des très basses pressions. *C. R.*, 1929, **189**, 241.
- [41] GUEUX (E.). — Sur quelques dérivés de l'acide stéarique. *Thèse Doct. Pharm.*, Paris, 1908.
- [42] GUILLAUMIN (Ch.-O.), WAHL (R.) et LAURENCIN (M. L.). — Sur le dosage des albumines sériques. Comparaison de quelques résultats par pesée, par azotométrie et par réfractométrie. *Bull. Soc. Ch. biol.*, 1929, **11**, 387.

- [43] GUILLIERMOND (A.). — Résumé synthétique des principaux résultats des recherches (1900-1934). Rennes, 1934, Imp. Oberthur.
- [44] GUILLOT (M.) et ONG SIAN GWAN. — Action inhibitrice de diverses substances capillaroactives sur l'intestin isolé de cobaye, vis-à-vis de l'acétylcholine et de l'histamine. *C. R. Soc. Biol.*, 1937, **126**, 318.
- [45] GUYOT (J.). — Effet VOLTA et couches monomoléculaires. *C. R.*, 1914, **159**, 309.
- [46] GUYOT (J.). — Effet VOLTA métal-électrolyte et couches monomoléculaires. *Ann. Physique*, 1924, Xe série, **2**, 506.
- [47] HARDY (W. B.) et GARDINER (S.). — Proteins of blood plasma. *J. gen. Physiol.*, 1910, **40**, 68.
- [48] HEWITT (L. F.). — Optical rotatory power and dispersion of proteins. *Biochem. J.*, 1927, **21**, 216.
- [49] HUGHES (A. H.). — Unimolecular films of lecithin and related compounds. *Biochem. J.*, 1935, **29**, 430.
- [50] HUGHES (A. H.). — Action of snake venoms on surface films. *Biochem. J.*, 1935, **29**, 437.
- [51] HUGHES (A. H.) et RIDEAL (E. K.). — On proteins monolayers. *Proc. Roy. Soc.*, A, 1932, **137**, 62.
- [52] HUGHES (A. H.) et RIDEAL (E. K.). — On the rate of oxidation of monolayers of unsaturated fatty acids. *Proc. Roy. Soc.*, A, 1933, **140**, 253.
- [53] LANGMUIR (I.). — Fundamental properties of solids and liquids. *J. am. chem. Soc.*, 1917, **39**, 1869.
- [54] LANGMUIR (I.) et WAUGH (D. F.). — The adsorption of proteins at oil-water interfaces and artificial protein-lipoid membranes. *J. gen. Physiol.*, 1938, **21**, 745.
- [55] LARSON (W. P.), EVENS (E. D.) et NELSON (Ed.). — The effect of sodium ricinoleate upon bacterial toxins and the value of soap-toxins as antigens. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 1924, **21**, 278.
- [56] LECOMTE DU NOUY (P.). — Equilibres superficiels des solutions colloïdales. Paris, 1929, Masson.
- [57] LECOMTE DU NOUY (P.). — Méthodes physiques en biologie et en médecine. Paris, 1933, Baillière.
- [58] MACHEBEUF (M.). — Recherches sur les phosphoaminolipides et les stérides du sérum et du plasma. Entraînement des phospholipides, des stérols et des stérides par les diverses fractions au cours du fractionnement des protéides du sérum. *Bull. Soc. Ch. biol.*, 1929, **11**, 268.
- [59] MACHEBEUF (M.). — Etude physicochimique de la fraction protéidique la plus riche en phospholipides et en stérides. *Bull. Soc. Ch. biol.*, 1929, **11**, 485.
- [60] MACHEBEUF (M.). — Etat des lipides dans la matière vivante. Paris, 1936, Hermann.
- [61] MACHEBEUF (M.). — Protéides du sérum sanguin. Aperçus physicochimiques sur les œdèmes dans *Exposés annuels de Biochimie médicale*, 1re série, Paris, 1939, Masson.
- [62] MACHEBEUF (M.). — Les lipides et les substances lipoidiques du sérum sanguin. Les cénapses lipoprotéidiques. Quelques aperçus sur les lipémies dans *Exposés annuels de Biochimie médicale*, 1re série, Paris, 1939, Masson.
- [63] MACHEBEUF (M.) et DIZERBO (L.). — Méthode simplifiée d'obtention des cénapses lipoprotéidiques acidoprécipitables du sérum. *C. R. Soc. Biol.*, 1939, **132**, 268.

- [64] MACHEBŒUF (M.) et JANUSKIEWICZ (M.). — Etude sur les cénapses lipidoprotéidiques du sérum sanguin. Nature des protéides entrant dans la constitution de ces cénapses. *Bull. Soc. Ch. biol.*, 1937, **19**, 694.
- [65] MACHEBŒUF (M.) et SANDOR (G.). — Recherches biologiques sur la néphrose lipoïdique. Etude de l'état physicochimique et du rôle des lipides plasmatiques. *Bull. Soc. Ch. biol.*, 1931, **13**, 743.
- [66] MACHEBŒUF (M.) et SANDOR (G.). — Recherches sur la nature et la stabilité des liaisons protéides-lipides du sérum sanguin. Etude de l'extraction des lipides par l'éther en présence d'alcool. *Bull. Soc. Ch. biol.*, 1932, **14**, 4168.
- [67] MACHEBŒUF (M.) et TAYEAU (F.). — Sur l'état des lipides et du cholestérol dans le sérum sanguin. Destruction de certaines cénapses lipoprotéidiques et libération de leurs substances lipoïdiques par un savon. *C. R.*, 1938, **206**, 860.
- [68] MACHEBŒUF (M.) et TAYEAU (F.). — Libération des lipides de certaines cénapses lipoprotéidiques du sérum sanguin par divers savons. *C. R. Soc. Biol.*, 1938, **129**, 1181.
- [69] MACHEBŒUF (M.) et TAYEAU (F.). — Méthode permettant de délipider, sans les dénaturer, les globulines du sérum sanguin. Application à l'étude du rôle des lipides dans le fractionnement des globulines en euglobuline et pseudoglobuline. *C. R. Soc. Biol.*, 1938, **129**, 1184.
- [70] MACHEBŒUF (M.) et TAYEAU (F.). — Nouvelles recherches sur la nature et la stabilité des liaisons unissant les lipides aux protéides dans le sérum sanguin. Libération des lipides de certaines cénapses lipoprotéidiques par divers savons. *Bull. Soc. Ch. biol.*, 1941, **23**, 31.
- [71] MACHEBŒUF (M.) et TAYEAU (F.). — Actions des savons et de l'éther sur les cénapses lipidoprotéidiques contenues dans les diverses fractions protéidiques du sérum sanguin. *Bull. Soc. Ch. biol.*, 1941, **23**, 49.
- [72] MACHEBŒUF (M.) et TAYEAU (F.). — Recherches sur la néphrose lipoïdique. Comparaison physicochimique des albumines de sérums de malades atteints de néphrose lipoïdique et des protéides de sujets normaux. *Bull. Soc. Ch. biol.*, 1941, **23**, 196.
- [73] MACHEBŒUF (M.) et VANAUD (H.). — Etudes sur l'électrophorèse des cénapses lipidoprotéidiques du sérum sanguin. Les cénapses acidoprécipitables. *C. R. Soc. Biol.*, 1941, **135**, 1249.
- [74] MACHEBŒUF (M.) et WAHL (R.). — Etude des globulines et des albumines du sérum sanguin et des lipides qui les accompagnent dans leur précipitation (Recherches biologiques sur la néphrose lipoïdique). *Bull. Soc. Ch. biol.*, 1931, **13**, 486.
- [75] MACHEBŒUF (M.) et WAHL (R.). — Etude qualitative des lipides et des diverses fractions lipidiques du sérum sanguin (Recherches biologiques sur la néphrose lipoïdique). *Bull. Soc. Ch. biol.*, 1931, **13**, 504.
- [76] MACHEBŒUF (M.) et WAHL (R.). — Fractionnement des albumines du sérum sanguin et des lipides qui les accompagnent (Recherches biologiques sur la néphrose lipoïdique). *Bull. Soc. Ch. biol.*, 1931, **13**, 511.
- [77] MACHEBŒUF (M.) et WAHL (R.). — Etude de l'extraction des lipides du sérum sanguin par l'éther (Recherches biologiques sur la néphrose lipoïdique). *Bull. Soc. Ch. biol.*, 1931, **13**, 736.
- [78] MARCELIN (A.). — Les solutions superficielles, fluides à deux dimensions. *Ann. Physique*, 1925, X^e série, **4**, 459.
- [79] MARFORI (L.). — Modificazioni della struttura fisico-chimica del siero (complessi lipoproteici) per azione della temperatura cosiddetta critica. *Tesi Clinica medica*, Roma, 1936.

- [80] MARSDEN (J.) et SCHULMAN (J. H.). — Molecular interaction in monolayers. *Trans. Faraday Soc.*, 1938, **34**, 749.
- [81] MITCHELL (J. S.). — The role of molecular orientation in photochemical reactions in monolayers. *J. Chem. Physics*, 1936, **4**, 725.
- [82] MITCHELL (J. S.) et RIDEAL (E. K.). — Photochemical reactions in monolayers. *Proc. Roy. Soc., A*, 1938, **167**, 342.
- [83] MITCHELL (J. S.), RIDEAL (E. K.) et SCHULMAN (J. H.). — Effects of traces of metallic ions on monolayers. *Nature*, 1937, **139**, 625.
- [84] NEURATH (H.). — The interaction between proteins and fatty acids on the surface of aqueous solutions. *J. Chem. Physics*, 1938, **42**, 39.
- [85] PHILIPPI (G. Th.). — On the nature of proteins. *Thèse Université de Leyde*, 1936.
- [86] PIETTRE (M.). — Biochimie des protéines. Des protéines humérales au protoplasma par la méthode à l'acétone aux basses températures. Paris, 1937, Baillière.
- [87] RAMAN (C. V.) et RAMDAS (L. A.). — The scattering of light by liquid boundaries and its relation to surface tension. *Proc. Roy. Soc., A*, 1925, **109**, 272.
- [88] RIDEAL (E. K.). — An introduction to surface chemistry. Cambridge, 1930.
- [89] RIDEAL (E. K.). — On phase boundary potentials. Réunion internationale de chimie-physique, 1933. Paris, 1934, Hermann.
- [90] RIDEAL (E. K.). — Discussion on surface phenomena films (opening address). *Proc. Roy. Soc., A*, 1936, **155**, 684.
- [91] RIDEAL (E. K.). — Film reactions as a new approach to biology. *Nature*, 1939, **144**, 693 et *Science*, 1939, **90**, 217.
- [92] RIDEAL (E. K.) et MITCHELL (J. S.). — Photochemical reactions in monolayers. Photochemical properties of the keto-imino linkage. *Proc. Roy. Soc., A*, 1937, **159**, 206.
- [93] RIDEAL (E. K.) et SCHULMAN (J. H.). — Reactions with monolayers and their biological analogies. *Nature*, 1939, **144**, 100.
- [94] SAIAS (E.). — Sur quelques propriétés des films mixtes lipoprotéiques formés à partir de sérumalbumine. *C. R.*, 1942, **214**, 393.
- [95] SAMESHIMA (J.) et SASAKI (T.). — Studies of monomolecular films by the ripple method. *Bull. chem. Soc. Japan*, 1936, **11**, 539.
- [96] SCHULMAN (J. H.). — Structure in relation to living biological functions. *Trans. Faraday Soc.*, 1937, **33**, 1116.
- [97] SCHULMAN (J. H.) et COCKBAIN (E. G.). — *Trans. Faraday Soc.*, 1940, **36**, 651.
- [98] SCHULMAN (J. H.) et HUGHES (A. H.). — Monolayers of proteolytic enzymes and proteins. Enzyme reactions and penetration of protein monolayers. *Biochem. J.*, 1935, **29**, 1236.
- [99] SCHULMAN (J. H.) et HUGHES (A. H.). — Monolayers of proteolytic enzymes and proteins. Mixed unimolecular films. *Biochem. J.*, 1935, **29**, 1243.
- [100] SCHULMAN (J. H.) et RIDEAL (E. K.). — On the surface potentials of unimolecular films of long-chain fatty acids. *Proc. Roy. Soc., A*, 1931, **130**, 259.
- [101] SCHULMAN (J. H.) et RIDEAL (E. K.). — On monolayers of proteolytic enzymes and proteins. *Biochem. J.*, 1933, **27**, 1581.
- [102] SCHULMAN (J. H.) et RIDEAL (E. K.). — Molecular interaction in monolayers. Complexes between large molecules. *Proc. Roy. Soc., B*, 1937, **122**, 29.
- [103] SCHULMAN (J. H.) et RIDEAL (E. K.). — Molecular interaction in monolayers. The action of hæmolytic and agglutinating agents on lipoprotein monolayers. *Proc. Roy. Soc., B*, 1937, **122**, 46.

- [104] SCHULMAN (J. H.) et STENHAGEN (E.). — Molecular interaction in monolayers. Complex formation in lipid monolayers. *Proc. Roy. Soc., B*, 1938, **126**, 356.
- [105] SÖRENSEN (S. P. L.). — The constitution of soluble proteins. *C. R. Trav. Lab. Carlsberg*, 1930, **18**, 1.
- [106] STALLBERG (S.) et TEORELL (T.). — A new method of spreading monolayers of albumin and lipid-albumin mixtures. *Trans. Faraday Soc.*, 1939, **35**, 1413.
- [107] STENHAGEN (E.) et RIDEAL (E. K.). — The interaction between porphyrins and lipid and protein monolayers. *Biochem. J.*, 1939, **33**, 4591.
- [108] SVEDBERG (T.). — Les molécules protéiques. Paris, 1939, Hermann.
- [109] TAYEAU (F.). — Comparaison de l'action de divers savons sur le sérum en présence d'éther. *C. R. Soc. Biol.*, 1939, **130**, 1027.
- [110] TAYEAU (F.). — Sur l'état du cholestérol dans le sérum sanguin. Destruction des cénapses cholestéroprotéidiques par les saponosides. *C. R.*, 1941, **212**, 575.
- [111] VALETTE (G.). — Action de l'oléate et du ricinoléate de sodium sur la lécithine. *Bull. Sc. Pharm.*, 1936, **43**, 408.
- [112] ZOCHER (H.) et STIEBEL (F.). — Dunkelfeldmikroskopie dünnster Filme auf Flüssigkeitsoberflächen. *Z. phys. chem., A*, 1930, **147**, 401.
-

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
INTRODUCTION	1
Les cénapses lipoprotéïdiques	1
 <i>PREMIÈRE PARTIE. — Propriétés générales des films moléculaires simples ou complexes.</i> 	
<i>Chapitre I. — Généralités sur les couches monomoléculaires</i>	3
Principaux types de couches monomoléculaires	3
I. — Couches superficielles d'adsorption	3
II. — Couches superficielles d'étalement	4
Méthodes générales d'étude des couches monomoléculaires	8
I. — Méthodes mécaniques	9
II. — Méthodes optiques	10
III. — Méthodes électriques	11
<i>Chapitre II. — Les couches monomoléculaires de protéines</i>	12
<i>Chapitre III. — Réactions chimiques en couches monomoléculaires</i>	17
I. — Réactions entre les molécules du film et celles qu'on intro- duit dans la solution-support	18
II. — Couches monomoléculaires mixtes	24
III. — Couches monomoléculaires à l'interface de deux liquides	26
IV. — Les interactions moléculaires en films et les hypothèses qu'elles suggèrent en biologie	26
 <i>DEUXIÈME PARTIE. — Recherches expérimentales sur les films complexes à base de sérumalbumine humaine.</i> 	
<i>Chapitre I. — Appareils de mesure</i>	29
I. — Mesure des pressions superficielles à l'interface eau-air	29
II. — Mesure des variations du potentiel de surface	33
III. — Etalement des couches monomoléculaires	34
<i>Chapitre II. — Origine, purification ou préparation des corps utilisés</i>	36
<i>Chapitre III. — Couches monomoléculaires mixtes cholestérol-sérumalbumine</i>	39
I. — Films mixtes sérumalbumine-cholestérol	41
II. — Effet de l'introduction de sérumalbumine sous un film de cholestérol	45
III. — Action du digitonoside sur les couches monomoléculaires de protéine et les films mixtes cholestérol-sérumalbumine	46
<i>Chapitre IV. — Association acide ricinoléique-sérumalbumine</i>	49
I. — Effet de l'introduction du ricinoléate de lithium sous une couche superficielle de sérumalbumine	49
II. — Films mixtes ricinoléate de lithium-sérumalbumine	51
CONCLUSIONS	54
BIBLIOGRAPHIE	56

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITION DONNÉE PAR LA FACULTÉ

Relation entre l'effet Tyndall et le degré de dispersion d'un liquide (solutions moléculaires ou hydrosols).

VU :

Le Président de la Thèse,
H. HÉRISSEY.

VU :

Le Doyen de la Faculté,
A. DAMIENS.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Le Recteur de l'Académie de Paris,
GILBERT GIDEL.

